

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR KULIT BUAH PETAI (*Parkia speciosa*) TERHADAP HEMATOLOGI IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa*

SKRIPSI

Oleh :
FARIDA MAULUDIA
NIM. 155080501111024



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR KULIT BUAH PETAI (*Parkia speciosa*) TERHADAP HEMATOLOGI IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa*

SKRIPSI

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

Oleh :
FARIDA MAULUDIA
NIM. 155080501111024



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR KULIT BUAH PETAI (*Parkia speciosa*) TERHADAP HEMATOLOGI IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa*

Oleh :
FARIDA MAULUDIA
NIM. 155080501111024

Telah Dipertahankan Didepan Penguji
Pada Tanggal 22 Mei 2019
Dan Dinyatakan Telah Memenuhi Syarat

Dosen Pembimbing I


Prof. Dr. Ir. Maftuch, M.Si.
NIP. 9660825 199203 1 001
TANGGAL : 19 JUN 2019

Menyetujui,

Dosen Pembimbing II


Ir. Heny Suprastyani, MS
NIP. 19620904 198701 2 001
TANGGAL : 19 JUN 2019

Mengetahui,

Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan



Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP
NIP. 19680919 200501 1 001
TANGGAL : 19 JUN 2019



IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR KULIT BUAH PETAI
(*Parkia speciosa*) TERHADAP HEMATOLOGI IKAN NILA
(*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Pseudomonas
aeruginosa***

Nama Mahasiswa : FARIDA MAULUDIA

NIM : 155080501111024

Program Studi : Budidaya Perairan

PENGUJI PEMBIMBING :

Pembimbing 1 : PROF. DR. IR. MAFTUCH, M.Si.

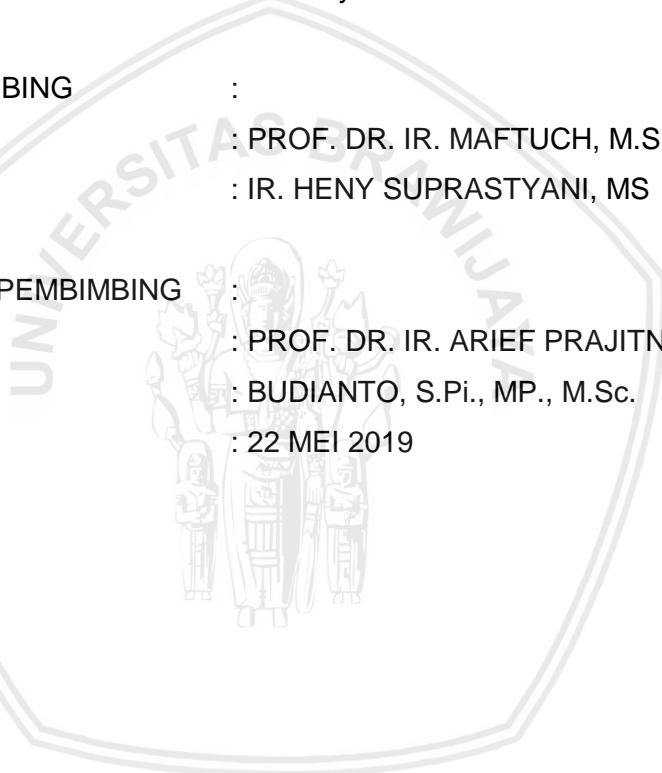
Pembimbing 2 : IR. HENY SUPRASTYANI, MS

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING :

Dosen Penguji 1 : PROF. DR. IR. ARIEF PRAJITNO, MS

Dosen Penguji 2 : BUDIANTO, S.Pi., MP., M.Sc.

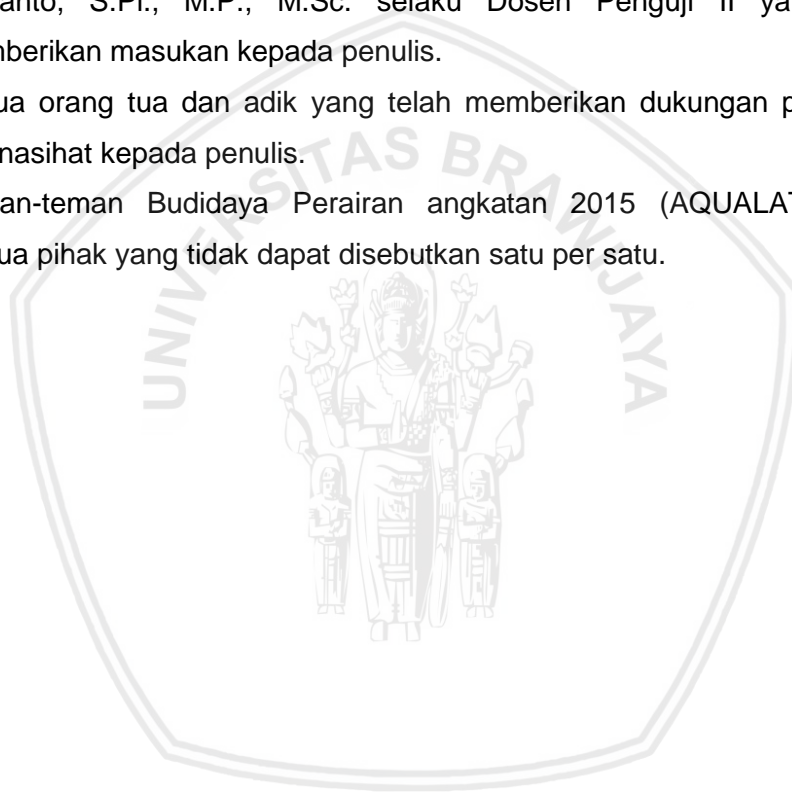
Tanggal Ujian : 22 MEI 2019



UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya yang telah memberikan karunia dan kesehatan kepada penulis agar dapat menyelesaikan skripsi ini. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Maftuch, M.Si. selaku Dosen Pembimbing I dan Ibu Ir. Heny Suprastyani, MS selaku Dosen Pembimbing II yang banyak memberikan bimbingan dan nasihat kepada penulis.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS selaku Dosen Penguji I dan Bapak Budianto, S.Pi., M.P., M.Sc. selaku Dosen Penguji II yang banyak memberikan masukan kepada penulis.
3. Kedua orang tua dan adik yang telah memberikan dukungan penuh, doa, dan nasihat kepada penulis.
4. Teman-teman Budidaya Perairan angkatan 2015 (AQUALATTE) serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.



RINGKASAN

FARIDA MAULUDIA. Skripsi tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Kulit Buah Petai (*Parkia speciosa*) terhadap Hematologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (dibawah bimbingan Prof. Dr. Ir. Maftuch, M.Si. dan Ir. Heny Suprastyani, MS).

Peningkatan produksi ikan nila dalam mendukung program industrialisasi dilakukan untuk mengembangkan pembudidayaan ikan unggul yang produktif dan adaptif di kawasan pertambakan. Masalah penyakit merupakan kendala utama, biasanya dapat disebabkan oleh bakteri *P. aeruginosa* yang mampu menularkan penyakit dari hewan atau ikan kepada manusia dan sebaliknya. Penggunaan bahan-bahan kimia seperti antibiotik umumnya digunakan sebagai salah satu pencegahan penyakit sebelum kegiatan budidaya berlangsung. Namun penggunaan antibiotik dapat menimbulkan resistensi patogen, mencemari lingkungan, dan dapat membahayakan kesehatan konsumen. Salah satu bahan alami yang dapat digunakan adalah kulit buah petai (*P. speciosa*).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap hematologi ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*. Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2018 hingga Februari 2019 di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Parasit dan Penyakit Ikan, Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Reproduksi Ikan, Laboratorium Ilmu Teknologi Hasil Perairan Divisi Keamanan Hasil Perikanan, serta Laboratorium Hidrobiologi Divisi Sumberdaya Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.

Metode yang diterapkan pada penelitian adalah metode eksperimental, sedangkan rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan penelitian ini terdiri dari 4 perlakuan yakni ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dengan dosis 10 ppm, 25 ppm, 40 ppm, 55 ppm; 2 kontrol yakni kontrol positif dengan antibiotik *Tetracycline* 30 ppm dan kontrol negatif sebanyak 3 ulangan. Pengambilan sampel darah dilakukan pada saat 12 jam, 24 jam, 36 jam, dan 48 jam setelah penginfeksian.

Hasil perlakuan pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) memberikan pengaruh terhadap hematologi ikan nila (*O. niloticus*). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa nilai terendah pada eritrosit, hematokrit, dan hemoglobin adalah pada saat 24 jam, sedangkan nilai tertinggi pada saat 48 jam. Untuk nilai tertinggi pada leukosit dan diferensial leukosit adalah pada saat 24 jam, sedangkan nilai terendah pada saat 48 jam.

Perlakuan terbaik pada penelitian ini adalah perlakuan D dengan dosis 55 ppm. Namun perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk menentukan dosis ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) yang optimal untuk hematologi ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadirat Allah SWT berkat rahmat, karunia dan hidayat-Nya penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul: “**Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Kulit Buah Petai (*Parkia speciosa*) terhadap Hematologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*”.**

Penulis juga berterima kasih kepada Bapak Prof. Dr. Ir. Maftuch, M.Si. selaku dosen pembimbing I, Ibu Ir. Heny Suprastyani, MS selaku dosen pembimbing II dan semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi tersebut.

Penulis sangat berharap skripsi ini dapat berguna bagi pembaca dalam rangka menambah wawasan serta pengetahuan mengenai penanganan penyakit yang menginfeksi ikan nila (*O. niloticus*). Selain itu, penulis menyadari bahwa didalam skripsi ini masih terdapat kekurangan dan jauh dari kata sempurna. Oleh sebab itu, penulis berharap adanya kritik serta saran demi perbaikan tulisan yang akan dibuat di masa yang akan datang. Demikian penulis sampaikan terima kasih.

Malang, Maret 2019

Penulis

DAFTAR ISI

SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
IDENTITAS TIM PENGUJI	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
RINGKASAN.....	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Hipotesis	4
1.5 Kegunaan Penelitian.....	4
1.6 Tempat dan Waktu.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Kulit Buah Petai (<i>P. speciosa</i>).....	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	5
2.1.2 Bahan Aktif	6
2.2 Biologi Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	7
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	7
2.2.2 Habitat dan Penyebaran	8
2.2.3 Kebiasaan Makan	9
2.2.4 Penyakit.....	9
2.3 Bakteri <i>P. aeruginosa</i>	10
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi	10
2.3.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan	11
2.3.3 Infeksi Bakteri <i>P. aeruginosa</i>	12
2.4 Hematologi.....	13
2.4.1 Sel Darah Merah (Eritrosit).....	13
2.4.2 Sel Darah Putih (Leukosit)	14
2.4.3 Diferensial Leukosit	14
2.4.4 Hematokrit.....	15
2.4.5 Hemoglobin	16
2.4.6 Proses Pembekuan Darah	17
3. METODE PENELITIAN	18
3.1 Materi Penelitian	18
3.1.1 Alat Penelitian.....	18
3.1.2 Bahan Penelitian.....	19
3.2 Metode Penelitian	21
3.3 Rancangan Penelitian	21
3.4 Prosedur Penelitian.....	22
3.4.1 Persiapan Penelitian	22

3.4.2 Pelaksanaan Penelitian.....	30
3.5 Uji Hematologi.....	32
3.5.1 Pengambilan Sampel Darah	32
3.5.2 Pembuatan Preparat dan Perhitungan Sel Darah	32
3.6 Parameter Uji.....	34
3.6.1 Parameter Uji.....	34
3.6.2 Parameter Penunjang	35
3.7 Analisis Data.....	35
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	36
4.1 Uji Pendahuluan.....	36
4.2 Analisis Hematologi.....	40
4.2.1 Jumlah Sel Darah Merah (Eritrosit)	41
4.2.2 Jumlah Sel Darah Putih (Leukosit).....	46
4.2.3 Jumlah Diferensial Leukosit	51
4.2.4 Kadar Hematokrit	66
4.2.5 Kadar Hemoglobin	71
4.3 Gejala Klinis Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	76
4.4 Tingkat Kelulushidupan (<i>Survival Rate</i>).....	77
4.5 Kualitas Air.....	80
4.5.1 Suhu	81
4.5.2 Oksigen Terlarut (DO).....	81
4.5.3 Derajat Keasaman (pH)	81
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	82
5.1 Kesimpulan	82
5.2 Saran	82
DAFTAR PUSTAKA.....	83
LAMPIRAN.....	90

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat Penelitian yang Digunakan untuk <i>In Vitro</i>	18
2. Alat Penelitian yang Digunakan untuk <i>In Vivo</i>	19
3. Bahan Penelitian yang Digunakan untuk <i>In Vitro</i>	19
4. Bahan Penelitian yang Digunakan untuk <i>In Vivo</i>	20
5. Hasil Pengamatan Uji MIC	36
6. Hasil Pengamatan Uji Cakram	36
7. Rataan Uji Cakram	37
8. Analisis Sidik Ragam Uji Cakram.....	37
9. Uji BNT Nilai Uji Cakram.....	38
10. Rataan Eritrosit ($\times 10^6$ sel/mm ³) Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) selama Pengamatan	41
11. Analisis Sidik Ragam Jumlah Eritrosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) selama Pengamatan.....	42
12. Uji BNT Nilai Eritrosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) selama Pengamatan.....	43
13. Rataan Leukosit ($\times 10^4$ sel/mm ³) Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) selama Pengamatan	46
14. Analisis Sidik Ragam Jumlah Leukosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) selama Pengamatan.....	47
15. Uji BNT Nilai Leukosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) selama Pengamatan	48
16. Rataan Limfosit (%) Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) selama Pengamatan.....	51
17. Analisis Sidik Ragam Jumlah Limfosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) selama Pengamatan.....	52
18. Uji BNT Nilai Limfosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) selama Pengamatan	53
19. Rataan Monosit (%) Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) selama Pengamatan	56
20. Analisis Sidik Ragam Jumlah Monosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) selama Pengamatan.....	57
21. Uji BNT Nilai Monosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) selama Pengamatan	58
22. Rataan Neutrofil (%) Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) selama Pengamatan.....	61
23. Analisis Sidik Ragam Jumlah Neutrofil Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) selama Pengamatan.....	62
24. Uji BNT Nilai Neutrofil Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) selama Pengamatan	63
25. Rataan Hematokrit (%) Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) selama Pengamatan.....	66
26. Analisis Sidik Ragam Jumlah Hematokrit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) selama Pengamatan.....	67

27. Uji BNT Nilai Hematokrit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) selama Pengamatan	68
28. Rataan Hemoglobin (G%) Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) selama Pengamatan	71
29. Analisis Sidik Ragam Jumlah Hemoglobin Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) selama Pengamatan.....	72
30. Uji BNT Nilai Hemoglobin Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) selama Pengamatan.....	73
31. Rataan <i>Survival Rate</i> (%) Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	77
32. Analisis Sidik Ragam <i>Survival Rate</i> Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>).....	78
33. Uji BNT Nilai <i>Survival Rate</i> Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>).....	78
34. Pemeriksaan Kualitas Air	80



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kulit dan buah Petai (<i>P. speciosa</i>)	6
2. Ikan nila (<i>O. niloticus</i>)	8
3. Bakteri <i>P. aeruginosa</i>	11
4. Denah rancangan penelitian	22
5. Grafik regresi uji cakram	39
6. Grafik regresi eritrosit ikan nila (<i>O. niloticus</i>) selama pengamatan.....	44
7. Grafik regresi leukosit ikan nila (<i>O. niloticus</i>) selama pengamatan.....	49
8. Grafik regresi limfosit ikan nila (<i>O. niloticus</i>) selama pengamatan	54
9. Grafik regresi monosit ikan nila (<i>O. niloticus</i>) selama pengamatan	59
10. Grafik regresi neutrofil ikan nila (<i>O. niloticus</i>) selama pengamatan	64
11. Grafik regresi hematokrit ikan nila (<i>O. niloticus</i>) selama pengamatan	69
12. Grafik regresi hemoglobin ikan nila (<i>O. niloticus</i>) selama pengamatan	74
13. Gejala klinis ikan nila (<i>O. niloticus</i>) yang telah terinfeksi, sisik yang terkelupas (a), sirip yang geripis (b)	77
14. Grafik regresi <i>survival rate</i> ikan nila (<i>O. niloticus</i>)	79

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat Penelitian.....	90
2. Bahan Penelitian.....	96
3. Analisis Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Kulit Buah Petai (<i>P. speciosa</i>)	100
4. Analisis Uji Biokimia <i>P. aeruginosa</i>	101
5. Perhitungan Kadar Air dan Rendemen Ekstrak Kasar Kulit Buah Petai (<i>P. speciosa</i>).....	102
6. Perhitungan Kepadatan Bakteri dengan Mc Farland	103
7. Skema Uji MIC.....	105
8. Perhitungan Dosis Ekstrak pada Uji MIC	106
9. Skema Uji Cakram	107
10. Perhitungan Pengenceran pada Uji <i>In Vivo</i>	108
11. Perhitungan Dosis pada Uji <i>In Vivo</i>	109
12. Hasil Perhitungan Uji Cakram	110
13. Hasil Perhitungan Jumlah Sel Darah Merah (Eritrosit)	111
14. Hasil Perhitungan Jumlah Sel Darah Putih (Leukosit)	115
15. Hasil Perhitungan Jumlah Limfosit	119
16. Hasil Perhitungan Jumlah Monosit.....	123
17. Hasil Perhitungan Jumlah Neutrofil	127
18. Hasil Perhitungan Kadar Hematokrit	131
19. Hasil Perhitungan Kadar Hemoglobin	135
20. Hasil Perhitungan Tingkat Kelulushidupan (<i>Survival Rate</i>).....	139
21. Hasil Uji Normalitas Data Kelulushidupan menggunakan SPSS	140
22. Hasil Pengukuran Kualitas Air selama Pemeliharaan.....	141
23. Hasil Pengamatan Hematologi Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	142

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perkembangan budidaya ikan nila (*O. niloticus*) cukup pesat di Asia terutama di Indonesia, tetapi masih memerlukan dorongan agar dapat menjadi komoditas andalan perikanan. Peningkatan produksi ikan nila dalam mendukung program industrialisasi dilakukan untuk mengembangkan pembudidayaan ikan unggul yang produktif dan adaptif di kawasan pertambakan (Hadie, Dewi dan Hadie, 2013). Peningkatan produksi ikan nila terlihat dari data statistik yang cukup signifikan dalam lima tahun terakhir sekitar 206.906 ton di tahun 2007 menjadi 567.078 ton pada tahun 2012. Indonesia telah menempati peringkat ketiga sebagai produsen ikan nila hasil budidaya yang cukup besar di dunia setelah Cina dan Mesir. Perkembangan budidaya ikan nila sering ditemukan di perairan tawar seperti kolam, waduk, sungai, maupun danau (Ridho, Soeprpto dan Syakirin, 2017). Keunggulan dari ikan nila sendiri yakni mampu beradaptasi pada kondisi lingkungan dengan kisaran salinitas yang luas, mudah didapatkan, memiliki rasa yang spesifik dan daging yang padat, mudah disajikan, tidak mempunyai banyak duri serta harganya yang sangat relatif murah (Simanjuntak, Siregar dan Wanna, 2017).

Masalah penyakit merupakan kendala utama, karena dapat merugikan usaha budidaya seperti penurunan produksi, penurunan kualitas air dan bahkan kematian total. Penyakit dapat disebabkan oleh beberapa jenis patogen seperti virus, parasit, jamur dan bakteri, beberapa jenis bakteri yang umumnya menyerang ikan air tawar. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri memperlihatkan gejala-gejala seperti kehilangan nafsu makan, luka-luka pada permukaan tubuh, pendarahan pada insang, perut membesar berisi cairan, sisik lepas, sirip ekor lepas. Jika dilakukan pembedahan akan terlihat pembengkakan

dan kerusakan pada hati, ginjal serta limpa. Hal ini dapat menyebabkan kematian diatas 80% dalam waktu relatif singkat. Penyakit ikan muncul akibat ketidakserasian antara ikan sebagai inang patogen (mikroorganisme penyebab penyakit) serta lingkungan. Sistem pertahanan tubuh ikan dapat terganggu akibat adanya perubahan lingkungan serta berkembangnya patogen dalam suatu wadah budidaya (Ashari, Tumbol dan Kolopita, 2014). Salah satu jenis bakteri Pseudomonas yang cepat dalam penyebarannya ialah *P. aeruginosa*. Bakteri tersebut merupakan bakteri yang memproduksi sejumlah endotoksin dan produk ekstraseluler berupa enzim-enzim seperti elastase protease dan dua hemolisin, fosfolipase C yang tidak tahan panas serta ramnolipid yang menunjang invasi lokal dan penyebaran mikroorganisme. Selain itu bakteri *P. aeruginosa* mempunyai sifat zoonosis yaitu dapat menularkan penyakit dari hewan atau ikan kepada manusia dan sebaliknya (Ritonga, Suryanto dan Yunasfi, 2017).

Penggunaan bahan-bahan kimia seperti antibiotik umumnya digunakan sebagai salah satu pencegahan penyakit sebelum kegiatan budidaya berlangsung. Namun penggunaan antibiotik dapat menimbulkan resistensi patogen, mencemari lingkungan, dan dapat membahayakan kesehatan konsumen. Oleh sebab itu, penggunaan bahan alami dapat menjadi alternatif untuk menanggulangi penyakit pada ikan nila akibat infeksi bakteri (Putri, Prayitno dan Sarjito, 2015). Salah satu bahan alami yang dapat digunakan adalah kulit buah petai (*P. speciosa*). Kulit buah petai mempunyai manfaat antara lain antioksidan, mengurangi stres, antiinflamasi, dan menghambat bakteri dikarenakan memiliki hampir seluruh senyawa kimia penting seperti tanin, terpenoid, asam thiazolidin-4-karbosilik, fenol, flavonoid, alkaloid, polisulfida siklik, dan satu lagi yang paling menarik penamaannya asam djenkolik. Senyawa yang paling berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri ialah polisulfida siklik berupa *hexathionine* dan *trithiolane*. Senyawa polisulfida siklik mampu

menghambat pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* yang menginfeksi ikan air tawar tak terkecuali ikan nila (Sirumapea dan Aswardi, 2016).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar kulit buah petai guna menangani ikan nila yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*. Untuk itu perlu dilakukan uji terhadap ekstrak kasar kulit buah petai agar memperoleh hasil yang paling efektif.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas diketahui bahwa kulit buah petai (*P. speciosa*) dapat digunakan sebagai bahan alternatif pengobatan. Hal ini dikarenakan kulit petai mempunyai senyawa bioaktif seperti tanin, terpenoid, asam thiazolidin-4-karbosilik, fenol, flavonoid, alkaloid, polisulfida siklik, dan satu lagi yang paling menarik penamaannya asam djenkolik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada ikan nila. Jadi, dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

- Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap hematologi ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*?
- Berapa dosis pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) yang tepat untuk yang diberikan pada ikan nila (*O. niloticus*)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Mengetahui pengaruh perendaman ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap hematologi ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*.
- Mengetahui dosis perendaman ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) yang tepat untuk diberikan pada ikan nila (*O. niloticus*).

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang mendasari penelitian ini yakni:

H_0 : Diduga perendaman ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) tidak berpengaruh terhadap hematologi ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*.

H_1 : Diduga perendaman ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) berpengaruh terhadap hematologi ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*.

1.5 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengaruh pemberian ekstrak kasar kulit buah petai untuk mendukung proses penanganan ikan nila yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*.

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Parasit dan Penyakit Ikan, Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Reproduksi Ikan, Laboratorium Ilmu Teknologi Hasil Perairan Divisi Keamanan Hasil Perikanan, serta Laboratorium Hidrobiologi Divisi Sumberdaya Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Desember 2018 hingga Februari 2019.

2. TINJAUAN PUSTAKA

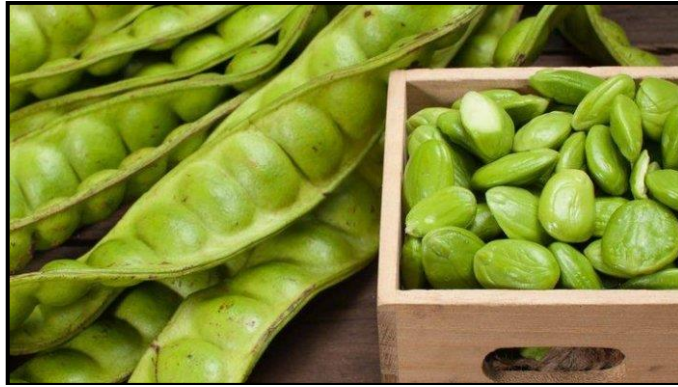
2.1 Kulit Buah Petai (*P. speciosa*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi kulit buah petai (*P. speciosa*) menurut Nursucihta, Putri, Thai'in dan Utami (2013), adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnolipsida
Ordo	: Fabales
Famili	: Fabaceae
Sub-famili	: Mimosoidaea
Genus	: Parkia
Spesies	: <i>P. speciosa</i> Hassk.

Petai (*P. speciosa*) menurut Sunanto (1992), merupakan tanaman yang berasal dari Malaysia, memiliki tinggi pohon sekitar 5-25 m dan memiliki banyak cabang. Daun dari pohon petai berbentuk menyirip ganda, memiliki kulit batang berwarna coklat agak kemerah-merahan. Bentuk buahnya berpolong dan berisi biji-biji. Kulit buah petai berbentuk tebal, memanjang menyelimuti biji-bijinya, dan berwarna hijau saat masih muda serta berwarna coklat kehitaman ketika setelah tua. Tanaman petai yang dikenal di Pulau Jawa terdiri dari dua jenis yakni jenis gajah dan kacang. Tanaman petai jenis gajah menghasilkan buah petai panjangnya sekitar 25-30 cm dan berisi biji sebanyak 15-18 biji, sedangkan tanaman petai jenis kacang menghasilkan buah petai panjangnya sekitar 20 cm dan berisi biji sebanyak 10-20 biji. Morfologi kulit dan buah petai (*P. speciosa*) disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kulit dan buah petai (*P. speciosa*) (Hanna, 2017).

2.1.2 Bahan Aktif

Petai menurut Verawaty dan Novel (2018), merupakan sumber energi potensial dengan dua porsi petai memberi tenaga cukup untuk melakukan pekerjaan berat selama 90 menit, memiliki kandungan fosfor yang baik bagi tubuh yaitu, 1,15 mg per biji, kandungan vitamin C yang tinggi 46 mg per 100 gram biji, vitamin A 200 IU per 100 g. Dibanding apel, petai memiliki protein 4 kali lebih banyak, karbohidrat dua kali lebih banyak, tiga kali lipat fosfor, lima kali lipat vitamin A dan zat besi, dan dua kali lipat jumlah vitamin dan mineral lainnya. Petai adalah salah satu tumbuhan obat yang telah diketahui memiliki khasiat sebagai antioksidan, baik pada biji maupun kulit bagian luar dan dalamnya. Senyawa kimia potensial yang terkandung dalam petai di antaranya tanin (dalam konsentrasi tinggi). Selain itu, terdapat fenolik, terpenoid, *thiazolidine-4-carboxylic acid*, flavonoid, alkaloid, polisulfida siklik, serta *djenkolic acid*.

Menurut pendapat Akbar (2018), dalam petai terkandung zat aktif berupa alkaloid, saponin, flavonoid, mimosin, leukanin, protein, lemak, kalsium, fosfor, besi, vitamin A dan vitamin B. Berbagai kandungan yang terdapat dalam tanaman petai yang diperkirakan sebagai antiinflamasi adalah flavonoid. Flavonoid diketahui memiliki sifat antioksidan, sifat antioksidan tersebut yang mungkin berperan sebagai hepatoprotektor dan mencegah hipertensi maupun anemia.

2.2 Biologi Ikan Nila (*O. niloticus*)

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi ikan nila (*O. niloticus*) menurut Suyanto (2010), adalah sebagai berikut:

Filum	: Chordata
Sub-filum	: Vertebrata
Kelas	: Osteichthyes
Sub-kelas	: Acanthopterygii
Ordo	: Percomorphi
Sub-ordo	: Percoidea
Famili	: Cichlidae
Genus	: Oreochromis
Spesies	: <i>O. niloticus</i>

Berdasarkan morfologinya, kelompok ikan Oreochromis ini memang berbeda dengan kelompok tilapia. Secara umum, bentuk tubuh ikan nila panjang dan ramping, dengan sisik berukuran besar. Matanya besar, menonjol, dan bagian tepinya berwarna putih. Gurat sisi (*linea lateralis*) terputus di bagian tengah badan kemudian berlanjut, tetapi letaknya lebih ke bawah daripada letak garis yang memanjang di atas sirip dada. Jumlah sisik pada gurat sisi jumlahnya 34 buah. Sirip punggung, sirip perut, dan siri dubur mempunyai jari-jari lemah tetapi keras dan tajam seperti duri. Sirip punggungnya berwarna hitam dan sirip dadanya juga tampak hitam. Bagian pinggir sirip punggung berwarna abu-abu atau hitam (Amri dan Khairuman, 2002). Morfologi ikan nila (*O. niloticus*) disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Ikan nila (*O. niloticus*) (Rukmana, 1997).

2.2.2 Habitat dan Penyebaran

Ikan nila dapat hidup di perairan yang dalam dan luas maupun di kolam yang sempit dan dangkal, nila juga dapat hidup di sungai yang tidak terlalu deras alirannya, di waduk, danau, rawa, sawah, tambak air payau, atau di dalam jaring terapung di laut. Termasuk di kolam beton dan kolam terpal. Kualitas air yang kurang baik mengakibatkan pertumbuhan ikan menjadi lambat. Dalam usaha budidaya ikan nila (*O. niloticus*) ketersediaan air dan kualitas air merupakan salah satu faktor yang menentukan keberhasilan dalam usaha budidaya ikan (Monalisa dan Minggawati, 2010).

Habitat nila adalah di air tawar, tetapi karena toleransi yang luas terhadap salinitas (*euryhaline*) sehingga dapat pula hidup dengan baik di air payau dan laut. Salinitas yang cocok untuk nila adalah 0-35 ppt (*part per thousand*), namun salinitas yang memungkinkan nila tumbuh optimal adalah 0-30 ppt. Nila masih dapat hidup pada salinitas 31-35 ppt, tetapi pertumbuhannya lambat. Selain itu, pH air yang cocok adalah 6-8,5, namun pertumbuhan optimalnya terjadi pada pH 7-8. Nilai pH yang masih ditolerir nila adalah 5-11. Suhu optimal untuk pertumbuhan nila antara 25-30°C. Pada suhu 22°C, nila masih dapat memijah, begitupula pada suhu 37°C. Pada suhu dibawah 14°C atau lebih dari 38°C, nila mulai terganggu. Suhu mematikan berada pada 6°C dan 42°C (Kordi, 2000).

2.2.3 Kebiasaan Makan

Berdasarkan macam pakan yang dimakannya, ikan dapat dibedakan menjadi tiga golongan menurut Djarijah (1995), yaitu (1) pemakan tumbuh-tumbuhan (herbivora), (2) pemakan daging (karnivora) dan (3) pemakan campuran (omnivora). Jenis ikan pemakan campuran (omnivora) tidak banyak memilih pakan yang akan dimakannya. Ikan ini lebih mudah dalam menyesuaikan dengan makanan yang ada (diberikan). Contoh ikan omnivora adalah ikan mas (*Cyprinus carpio*), ikan nila (*Oreochromis sp.*), dll. Panjang total usus ikan omnivora hanya sedikit lebih panjang dari panjang total badannya.

Makanan nila menurut Kordi (2000), berupa plankton, perifiton, serta tumbuh-tumbuhan lunak seperti hidrila, ganggang, dan klekap. Oleh karena itu, nila digolongkan kedalam omnivora (pemakan segala/hewan dan tumbuhan). Untuk pemeliharaannya, nila diberikan pakan buatan (pelet) yang mengandung protein antara 20-25%. Nila yang diberikan pakan yang mengandung protein 25-35% akan tumbuh optimal. Selain itu, bisa juga diberikan makanan berupa dedak halus, tepung bungkil kacang, ampas kelapa, dan sebagainya.

2.2.4 Penyakit

Penyakit yang sering terjadi pada ikan nila adalah *ulcerative disease* atau penyakit borok/penyakit bercak merah yang disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas*. Bakteri ini ditemukan pada ikan nila dengan tingkat patogenisitas yang cukup tinggi. Bakteri *Pseudomonas* dapat mengakibatkan ikan nila mengalami kematian yang tinggi. Ikan nila yang terinfeksi bakteri tersebut memiliki gejala eksoftalmia (penonjolan bola mata hingga keluar karena adanya pengumpulan cairan atau gas dalam rongga mata bagian belakang), warna tubuh menjadi pucat, sirip gripis dan ditemukan adanya luka pada daerah terinfeksi (Hardi, Pebrianto dan Saptiani, 2014).

Salah satu jenis bakteri *Pseudomonas* yang menginfeksi ikan nila adalah *P. aeruginosa*. Ciri-ciri ikan nila yang terinfeksi oleh bakteri tersebut menurut Putri, Syawal dan Lukistyowati (2017), biasanya mengalami pendarahan pada bagian tubuh terutama di bagian dada, perut, dan pangkal sirip. Selain itu, ikan akan bergerak hiperaktif, lebih sering berada di permukaan, lumpuh sehingga kemampuan ikan untuk beradaptasi semakin berkurang dan akhirnya dapat menyebabkan kematian. Tanda klinis lainnya seperti ikan memperlihatkan gejala stres ditandai dengan gerakan yang kurang stabil dan cenderung berada di dasar.

2.3 Bakteri *P. aeruginosa*

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi bakteri *P. aeruginosa* menurut Cornelis (2008), adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Pseudomonadales
Family	: Pseudomonadaceae
Genus	: <i>Pseudomonas</i>
Species	: <i>P. aeruginosa</i>

Bakteri *P. aeruginosa* menurut Widowati, Efiyati dan Wahyuningtyas (2014), berbentuk batang dengan ukuran sekitar 0,6 x 2 μm . Bakteri ini terlihat sebagai bakteri tunggal, berpasangan, dan terkadang membentuk rantai pendek. *P. aeruginosa* termasuk bakteri gram negatif. Bakteri ini bersifat aerob, katalase positif, oksidase positif, tidak mampu memfermentasi tetapi dapat mengoksidasi glukosa/karbohidrat lain, tidak berspora, tidak mempunyai selubung (*sheat*) dan

mempunyai flagel monotrika (flagel tunggal pada kutub) sehingga selalu bergerak. Morfologi bakteri *P. aeruginosa* disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Bakteri *P. aeruginosa* (Gschmeissner, 2013).

2.3.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan

Menurut Purnama (2013), pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* sangat dipengaruhi oleh adanya sumber karbon yang cukup, suhu yang optimal, dan kondisi pH yang cocok serta kondisi lain yang mendukung. Bakteri ini akan tumbuh tergantung dari kondisi tubuh ikan nila yang akan dijadikannya inang tersebut. Bakteri *P. aeruginosa* merupakan bakteri gram negatif dan termasuk golongan bakteri patogen. Bakteri ini dapat menginfeksi bagian luar maupun dalam tubuh ikan nila. Biasanya pada tubuh ikan nila akan muncul borok atau luka serta pembengkakan.

Bakteri *P. aeruginosa* menurut Rahmadian, Ismail, Abrar, Erina, Rastina dan Fahrimal (2018), tumbuh dengan baik pada suhu 4 °C atau dibawah 43 °C. Bakteri ini memproduksi beberapa enzim seperti protease, amilase, dan lipase. Selain itu bakteri Pseudomonas juga dapat menguraikan protein, karbohidrat dan senyawa organik lain menjadi CO₂, gas amoniak, dan senyawa-senyawa lain yang lebih sederhana. Bakteri *P. aeruginosa* senang hidup di lingkungan yang bersuhu antara 15-30 °C. Pada umumnya, *P. aeruginosa* berkembang dengan baik pada pH antara 5,5-9,0 dan memiliki batasan pH sekitar 5,3-9,7. pH rendah

merupakan keadaan yang optimal bagi perkembangbiakan beberapa jenis bakteri patogen seperti bakteri *P. aeruginosa* dan perubahan pH yang mencolok dapat menyebabkan ikan menjadi stres.

2.3.3 Infeksi Bakteri *P. aeruginosa*

Bakteri *P. aeruginosa* menurut Ritonga, *et al.* (2017), merupakan bakteri patogen yang paling dominan ditemui pada ikan yang mengalami luka atau borok pada badan permukaan tubuh yang sakit. Organ yang paling dominan ditemukan bakteri ini adalah bagian kulit. Serangan bakteri ini pada kulit menyebabkan kulit menjadi kesat dan timbul pendarahan. Selanjutnya diikuti dengan timbulnya luka-luka borok, perut kembung serta terjadi pendarahan pada hati, ginjal dan limfa saat dilakukan pembedahan.

Penyakit ikan yang disebabkan oleh *P. aeruginosa* menurut Thomas, Thanigaivel, Vijayakumar, Acharya, Shinge, Seelan, Mukherjee dan Chandrasekaran (2014), berdampak terhadap budidaya *Oreochromis* sp. karena kerugian ekonomi yang cukup besar. Infeksi *Pseudomonas* telah menjadi infeksi bakteri yang paling umum diantara ikan dan tampaknya menjadi penyakit yang menyebabkan stres ikan air tawar terutama dalam budidaya. Infeksi *Pseudomonas* pada ikan menyebabkan perkembangan penyakit kulit merah yang terjadi sepanjang tahun. *P. fluorescens*, *P. anguilliseptica*, *P. aeruginosa* dan *P. putida* diidentifikasi dalam berbagai spesies ikan sebagai agen penyebab septisemia *pseudomonas*. Penyakit ini ditandai dengan perdarahan beruam, kulit gelap, sisik yang terlepas, ascitis abdomen dan eksoftalmia. Mikroorganisme ini mengakibatkan penyakit tipe ulkus seperti sindrom ulseratif, septisemia, pembusukan ekor dan sirip, pembusukan insang, dan basal (*dropsy*).

2.4 Hematologi

Darah merupakan komponen yang sangat penting karena berfungsi untuk mengedarkan substansi yang masuk ke dalam tubuh maupun yang dihasilkan tubuh dari proses-proses metabolisme. Oleh karena itu darah menjadi salah satu parameter pokok dalam penelitian praklinik atau biomedik. Hematologi adalah ilmu yang mempelajari cara penilaian darah. Nilai hematologi (profil darah) berguna untuk menilai kondisi kesehatan dan sebagai acuan nilai awal atau kontrol dalam suatu penelitian. Adanya gangguan metabolisme, penyakit, kerusakan struktur dan/atau fungsi organ, pengaruh agen/obat, dan stres dapat diketahui dari perubahan profil darah (Fitria dan Sarto, 2014).

Darah ikan tersusun atas cairan plasma dan sel-sel darah yang terdiri dari sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan keping darah (trombosit). Di dalam plasma darah terkandung garam-garam anorganik (natrium klorida, natrium bikarbonat dan natrium fosfat), protein (dalam bentuk albumin, globulin dan fibrinogen), lemak (dalam lesitin dan kolesterol) serta zat-zat lain misalnya hormon, vitamin, enzim, dan nutrisi (Purwitasari, Artini dan Setyaningsih, 2004).

2.4.1 Sel Darah Merah (Eritrosit)

Eritrosit menurut Julendra, Zuprizal dan Supadmo (2010), adalah sel yang sangat kecil berisi hemoglobin dan protein pengikat oksigen sehingga jumlah eritrosit dalam darah juga bergantung kepada asupan protein pakan. Fungsi utama eritrosit ialah pertukaran gas (pernapasan) dan sebagai sistem pertahanan tubuh. Kekurangan jumlah eritrosit akan menimbulkan terhambatnya pertumbuhan ikan dikarenakan suplai oksigen dan nutrisi ke sel, jaringan dan organ akan berkurang sehingga proses metabolisme ikan menjadi terhambat.

Saragih, Syawal dan Rauwaty (2016), menyatakan bahwa jumlah eritrosit ikan normal berkisar antara 1×10^6 sel/mm³ hingga 3×10^6 sel/mm³. Apabila jumlah eritrosit rendah, maka menunjukkan ikan menderita anemia dan

kerusakan ginjal. Ginjal merupakan organ penghasil eritrosit. Ginjal ikan yang rusak akan menyebabkan produksi eritrosit menurun. Di samping itu jika jumlah eritrosit tinggi, maka menandakan ikan dalam keadaan stres. Jumlah eritrosit berkaitan erat dengan kadar hemoglobin dan hematokrit. Semakin rendah jumlah sel-sel darah merah (eritrosit), maka semakin rendah pula kandungan hemoglobin dalam darah.

2.4.2 Sel Darah Putih (Leukosit)

Leukosit adalah sel darah yang mengandung inti, disebut juga sel darah putih. Leukosit secara normal dapat ditemukan di dalam darah sebagai leukosit granulosit (leukosit bergranul) dan leukosit agranulosit (leukosit tidak bergranul). Leukosit granulosit dicirikan oleh adanya granular spesifik dalam sitoplasma dan berdasarkan dengan reaksi zat warna dikelompokkan menjadi neutrofil, eosinofil, dan basofil. Leukosit berfungsi sebagai sel pertahanan tubuh. Leukosit akan memfagositosis seluruh benda asing pada tubuh dalam proses kesembuhan luka (Rafdinal, Amiruddin, Asmilialia, Zuraidawati, Sayuti, Zuhrawati dan Daud, 2016).

Menurut Royan, Rejeki dan Haditomo (2014), kisaran normal leukosit ikan nila 20.000 sel/mm³ hingga 150.000 sel/mm³. Faktor-faktor yang mempengaruhi jumlah leukosit adalah kondisi dan kesehatan tubuh ikan. Leukosit merupakan sel darah yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh. Leukosit membantu membersihkan tubuh dari benda asing, termasuk invasi patogen melalui sistem tanggap kebal dan respon lainnya. Ikan yang sakit akan menghasilkan banyak leukosit untuk memfagosit bakteri dan mensintesa antibodi.

2.4.3 Diferensial Leukosit

a. Limfosit

Limfosit menurut Nuryati, Puspitaningtyas dan Wahjuningrum (2007), adalah sel penghasil antibodi, berbentuk bundar dengan sejumlah kecil sitoplasma tidak bergranula dan inti sel hampir memenuhi seluruh sel. Fungsi

utama limfosit adalah membentuk sel memori terhadap antigen. Selain itu, limfosit juga berfungsi menjaga kekebalan tubuh ikan. Limfosit diproduksi oleh organ timus, limpa dan ginjal. Persentase limfosit ikan nila normal menurut Utami, Prayitno, Hastuti dan Santika (2013), menunjukkan hasil sebesar 68-86%.

b. Monosit

Monosit menurut Roberts (2001), adalah sel yang berasal dari hemopoietik ginjal. Persentase monosit pada ikan sebanyak 0,1% dari populasi leukosit total yang bersirkulasi. Tetapi, jumlahnya akan bertambah apabila ditambahkan karbon. Biasanya peningkatan tersebut terjadi dalam waktu singkat yaitu 2 hari. Menurut pendapat Utami, *et al.* (2013), bahwa persentase monosit ikan nila normal sebesar 3,9-5,9%.

c. Neutrofil

Neutrofil menurut Purwaningsih, Taukhid, Lusiastuti, Sugiani dan Sumiati (2015), merupakan komponen darah putih yang pertama kali akan meninggalkan pembuluh darah dan berkomplemen dengan lisosom (vakuola berisi enzim) yang akan digunakan sel untuk menghancurkan benda asing. Neutrofil pada ikan sama seperti pada mamalia tetapi memiliki proporsi yang cenderung lebih sedikit. Persentase neutrofil ikan nila normal menurut Utami, *et al.* (2013), ialah sebesar 10-18,1%.

2.4.4 Hematokrit

Hematokrit adalah volume sel darah merah yang ada dalam darah diperoleh dari sampel darah total yang terdapat di tabung kapiler. Seiring meningkatnya jumlah eritrosit, maka nilai hematokrit ikut meningkat pula. Terjadinya penurunan nilai hematokrit setelah pasca injeksi, disebabkan karena infeksi bakteri yang mampu melisis sel-sel darah merah. Selain dari infeksi bakteri respon makan pun dapat memberi pengaruh pada komposisi darah

termasuk jumlah eritrosit yang juga berpengaruh terhadap hematokrit (Sukenda, Jamal, Wahjuningrum dan Hasan, 2008).

Alfian, Lukistyowati dan Syawal (2017), menyebutkan bahwa jumlah normal kadar hematokrit ikan nila berkisar antara 27,3 sampai 37,8%. Penurunan hematokrit dapat disebabkan oleh infeksi bakteri. Kadar hematokrit yang menurun menunjukkan adanya kerusakan pada sel darah merahnya. Apabila ikan terkena infeksi, maka nafsu makan ikan akan menurun dan nilai hematokrit darah akan menurun. Pemberian probiotik mampu meningkatkan kadar hematokrit dalam darah ikan nila.

2.4.5 Hemoglobin

Hemoglobin menurut Purwanti, Suminto dan Sudaryono (2014), merupakan pigmen sel darah yang berfungsi mengikat oksigen yang digunakan untuk proses katabolisme sehingga dihasilkan energi. Kadar hemoglobin selaras dengan jumlah eritrosit, semakin tinggi kadar hemoglobin semakin tinggi pula jumlah eritrosit. Kadar hemoglobin terkait dengan jumlah eritrosit, akan tetapi belum tentu berkorelasi dengan jumlah eritrosit dikarenakan hemoglobin adalah kandungan pigmen sel darah merah.

Menurut Royan, *et al.* (2014), kadar hemoglobin normal pada ikan nila berkisar 5,05-8,33 G%. Rendahnya kadar hemoglobin berdampak pada jumlah oksigen yang rendah pula didalam darah. Kadar hemoglobin dibawah kisaran normal mengindikasikan rendahnya kandungan protein pakan, defisiensi vitamin dan kualitas air buruk atau ikan terinfeksi. Sehingga dapat diduga bahwa rendahnya nilai hemoglobin akibat buruknya kualitas air, dalam hal ini yaitu salinitas. Buruknya kualitas air dikarenakan ikan langsung mengalami perubahan lingkungan (salinitas) tanpa proses adaptasi terlebih dahulu.

2.4.6 Proses Pembekuan Darah

Pembekuan darah pada ikan mirip dengan vertebrata yang lain. Adapun tiga komponen utama dalam sistem pembekuan darah; yaitu (1) sejumlah enzim yang berfungsi menghasilkan serabut fibrin dari fibrinogen, (2) sel-sel darah (trombosit) dapat menjadi perekat menyumbat permukaan yang rusak, dan (3) sistem enzim fibrinolitik melarutkan bekuan. Sistem tersebut dapat menutup luka pada pembuluh darah, namun tidak menghalangi aliran darah pada pembuluh darah yang kecil. Hal ini dikarenakan adanya keseimbangan antara komponen-komponen yang saling bertentangan (Fujaya, 2008).



3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Alat penelitian untuk *in vitro* dan *in vivo* beserta fungsinya disajikan pada Tabel 1 dan Tabel 2. Gambar dari alat penelitian tersebut dilampirkan pada Lampiran 1.

Tabel 1. Alat Penelitian yang Digunakan untuk *In Vitro*

No.	Alat	Fungsi
1.	Timbangan digital	Untuk menimbang bahan yang digunakan
2.	Oven	Untuk memanaskan sampel
3.	Blender	Untuk menghaluskan kulit buah petai yang telah dikeringkan
4.	Toples kaca 2 L	Untuk wadah bahan kulit buah petai (<i>P. speciosa</i>) saat maserasi
5.	Gelas ukur	Untuk wadah mengukur larutan
6.	Spatula	Untuk menghomogenkan larutan
7.	Corong	Untuk membantu penuangan larutan
8.	Erlenmeyer	Untuk wadah pengenceran ekstrak
9.	<i>Rotary Evaporator</i>	Untuk memisahkan antara ekstrak kasar dengan etanol teknis
10.	Botol film	Untuk wadah ekstrak kasar kulit buah petai
11.	Lemari pendingin	Untuk menyimpan ekstrak kasar kulit buah petai (<i>P. speciosa</i>) dan bakteri <i>P. Aeruginosa</i>
12.	Sendok	Untuk mengambil bahan
13.	Cawan petri	Untuk uji cakram
14.	Autoklaf	Untuk mensterilkan alat dan bahan yang akan digunakan
15.	LAF (<i>Laminary Air Flow</i>)	Untuk preparasi bahan-bahan mikrobiologi dan tempat penanaman bakteri
16.	<i>Hotplate</i>	Untuk memanaskan media
17.	Inkubator	Untuk tempat inkubasi
18.	Tabung reaksi	Untuk wadah media bakteri <i>P. aeruginosa</i> , pengenceran ekstrak, dan uji MIC
19.	Rak tabung reaksi	Untuk wadah peletakkan tabung reaksi
20.	Bunsen	Untuk pengondisian aseptis
21.	<i>Sprayer</i>	Untuk wadah alkohol 70%
22.	Pipet serologis	Untuk mengambil larutan
23.	Bola hisap	Untuk membantu mengambil larutan
24.	Jarum ose	Untuk mengambil bakteri dari media pada saat penanaman bakteri
25.	Mikropipet	Untuk mengambil larutan dalam skala tertentu
26.	Gunting	Untuk memotong bahan
27.	Nampan	Untuk wadah alat dan bahan yang akan digunakan
28.	<i>Beaker glass</i>	Untuk wadah tabung reaksi
29.	<i>Vortex mixer</i>	Untuk menghomogenkan larutan

Tabel 1. (lanjutan)

30.	Jangka sorong	Untuk mengukur zona bening pada <i>blank disk</i>
31.	<i>Cotton swab</i>	Untuk alat pada uji cakram
32.	Spektrofotometer	Untuk mengukur panjang gelombang bahan

Tabel 2. Alat Penelitian yang Digunakan untuk *In Vivo*

No.	Alat	Fungsi
1.	Akuarium (80x40x40cm)	Untuk wadah aklimatisasi ikan nila (<i>O. niloticus</i>)
2.	Toples plastik 16 L	Untuk wadah pemeliharaan ikan nila (<i>O. niloticus</i>)
3.	<i>Blower</i>	Untuk menyuplai oksigen pada ikan nila
4.	Selang aerator	Untuk membantu penyaluran suplai oksigen
5.	Batu aerator	Untuk pemberat selang aerator
6.	Seser	Untuk membantu mengambil ikan
7.	DO meter	Untuk mengukur parameter kualitas air oksigen terlarut (DO) dan suhu
8.	pH meter	Untuk mengukur parameter kualitas air pH
9.	Spuit	Untuk membantu mengambil sampel darah ikan
10.	<i>Appendorf</i>	Untuk wadah sampel darah ikan
11.	<i>Hemofuge</i>	Untuk mengukur kadar hematokrit
12.	Sahli Haemometer	Untuk mengukur kadar hemoglobin
13.	Pipet tetes	Untuk mengambil larutan dalam skala kecil
14.	<i>Haemocytometer</i>	Untuk mengamati sel darah ikan
15.	<i>Object glass</i>	Untuk preparat yang akan diamati
16.	<i>Cover glass</i>	Untuk menutup preparat yang akan diamati
17.	Mikroskop	Untuk mengamati sampel darah ikan

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan penelitian untuk *in vitro* dan *in vivo* beserta fungsinya disajikan pada Tabel 3 dan Tabel 4. Gambar dari bahan penelitian tersebut dilampirkan pada Lampiran 2.

Tabel 3. Bahan Penelitian yang Digunakan untuk *In Vitro*

No.	Bahan	Fungsi
1.	Kulit buah petai (<i>P. speciosa</i>)	Sebagai bahan yang diuji
2.	Etanol 96%	Sebagai bahan pelarut kulit buah petai pada saat maserasi
3.	Kertas label	Sebagai penanda
4.	Kertas saring	Sebagai bahan untuk menyaring ekstrak
5.	DMSO 10%	Sebagai bahan untuk pelarut ekstrak
6.	Bakteri <i>P. aeruginosa</i>	Sebagai bahan yang digunakan untuk uji MIC
7.	<i>Blue tip</i>	Sebagai pengambil larutan dalam skala tertentu
8.	Alkohol 70%	Sebagai bahan pengondisian aseptis
9.	PSA (<i>Pseudomonas Selective Agar</i>)	Sebagai media peremajaan bakteri dalam bentuk agar
10.	TSB (<i>Tryptic Soy Broth</i>)	Sebagai media tumbuh bakteri dalam bentuk cair

Tabel 3. (lanjutan)

11.	Ekstrak kasar kulit buah petai (<i>P. speciosa</i>)	Sebagai bahan perlakuan dosis
12.	Antibiotik <i>Tetracycline</i>	Sebagai bahan perlakuan kontrol positif
13.	BaCl dan H ₂ SO ₄	Sebagai bahan pada saat McFarland
14.	<i>Blank disk</i>	Sebagai bahan dalam uji cakram
15.	Tisu	Sebagai pembersih
16.	Masker	Sebagai penutup mulut
17.	Lateks	Sebagai penutup tangan
18.	Akuades	Sebagai pelarut ekstrak
19.	Kapas	Sebagai penutup lubang tabung reaksi dan erlenmeyer
20.	<i>Aluminium foil</i>	Sebagai penutup lubang <i>beaker glass</i>
21.	<i>Plastik wrap</i>	Sebagai penutup alat dalam proses sterilisasi

Tabel 4. Bahan Penelitian yang Digunakan untuk *In Vivo*

No.	Bahan	Fungsi
1.	Ikan nila (<i>O. niloticus</i>) 8-10 cm	Sebagai hewan uji
2.	Bakteri <i>P. aeruginosa</i>	Sebagai bahan yang digunakan untuk penginfeksi
3.	Ekstrak kasar kulit buah petai (<i>P. speciosa</i>)	Sebagai bahan yang digunakan untuk pengobatan
4.	Antibiotik <i>Tetracycline</i>	Sebagai bahan yang digunakan untuk pengobatan
5.	Air media	Sebagai media hidup hewan uji
6.	Pakan ikan	Sebagai nutrisi ikan
7.	Akuades	Sebagai bahan sterilisasi awal dan peluruh larutan
8.	Kertas saring	Sebagai penyaring
9.	<i>Aluminium foil</i>	Sebagai penutup agar sampel tidak terkontaminasi
10.	Alkohol 70%	Sebagai bahan pengondisian aseptis
11.	Sampel darah ikan nila	Sebagai sampel yang akan diamati
12.	EDTA (<i>Ethylene Diamine Tetraacetic Acid</i>)	Sebagai anti koagulan
13.	Tabung mikrohematokrit	Sebagai media pengukuran hematokrit
14.	<i>Crystoceal</i>	Sebagai penutup tabung mikrohematokrit
15.	HCl 0,1 N	Sebagai bahan yang digunakan dalam pengukuran hemoglobin
16.	Larutan Hayem	Sebagai pemberi warna merah pada eritrosit
17.	Larutan Turk	Sebagai pemberi warna ungu pada leukosit
18.	Metanol	Sebagai larutan untuk memfiksasi darah agar melekat pada darah
19.	Larutan Giemsa 10%	Sebagai pemberi warna ungu pada darah
20.	Tisu	Sebagai pembersih alat yang telah digunakan

3.2 Metode Penelitian

Metode yang diterapkan ialah metode eksperimental yang memungkinkan peneliti memanipulasi variabel dan meneliti akibatnya. Metode eksperimental menurut Khoiruddin (2014), adalah suatu metode pengujian terhadap suatu teori yang telah mapan dengan suatu perlakuan baru. Pengujian suatu teori dari ilmuwan yang telah dibuktikan oleh berapa kali pengujian bisa memperkuat atau memperlemah teori tersebut. Tetapi, ternyata dapat dibuktikan oleh eksperimen baru, maka teori tersebut akan lebih menguat dan mungkin akan mencapai taraf hukum teori.

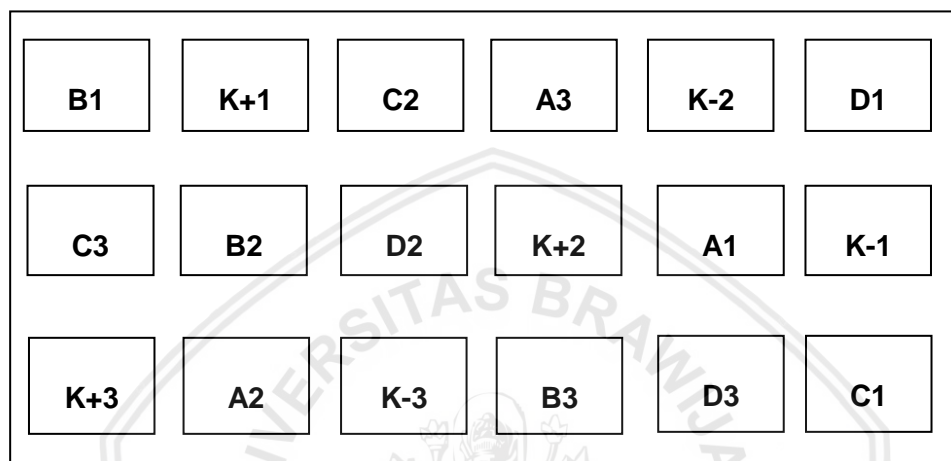
Metode penelitian dalam menganalisa gejala klinis menggunakan metode deskriptif. Metode deskriptif menurut Kharisma dan Manan (2012), yaitu metode yang menggambarkan kejadian atau keadaan pada suatu kondisi tertentu. Metode deskriptif juga dapat diartikan sebagai suatu metode yang bertujuan untuk memberikan gambaran umum, sistematis, faktual, dan valid mengenai data-data yang berupa fakta-fakta serta sifat populasi tertentu dari suatu kegiatan.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL). Rancangan acak lengkap diartikan sebagai suatu eksperimen dimana hanya mempunyai sebuah faktor yang nilainya berubah-ubah. Faktor yang diperhatikan dapat memiliki sejumlah taraf dengan nilai yang bisa kuantitatif, kualitatif, bersifat tetap ataupun acak. Pengacakan mengenai eksperimen tidak ada pembatasan, dan dalam hal demikian diperoleh desain yang diacak secara lengkap atau sempurna yang biasa disebut dengan desain rancangan acak lengkap (RAL) (Morena, 2013).

Rancangan penelitian ini terdiri dari 4 perlakuan, 2 kontrol yaitu kontrol positif dan kontrol negatif dengan 3 kali ulangan. Perlakuan yang digunakan

adalah ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*). Kontrol positif menggunakan antibiotik sintetis yaitu *Tetracycline* 30 ppm. Sedangkan kontrol negatif dengan menginokulasi bakteri ke media tanpa penambahan ekstrak. Adapun penempatan perlakuan dilakukan secara acak dengan denah rancangan penelitian yang disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Denah rancangan penelitian

Keterangan:

- K+ : Toples dengan perlakuan ikan nila yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* dan pemberian antibiotik *Tetracycline* 30 ppm tanpa pemberian ekstrak kulit buah petai.
- K- : Toples dengan perlakuan ikan nila yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* dan tanpa pemberian ekstrak kulit buah petai.
- A : Toples dengan perlakuan ikan nila yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* dengan pemberian ekstrak kulit buah petai 10 ppm.
- B : Toples dengan perlakuan ikan nila yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* dengan pemberian ekstrak kulit buah petai 25 ppm.
- C : Toples dengan perlakuan ikan nila yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* dengan pemberian ekstrak kulit buah petai 40 ppm.
- D : Toples dengan perlakuan ikan nila yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* dengan pemberian ekstrak kulit buah petai 55 ppm.
- 1, 2, 3 : Ulangan

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Penelitian

Persiapan penelitian terdiri dari sterilisasi alat dan bahan, sterilisasi tempat perlakuan, pembuatan ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*), pembuatan media PSA dan TSB, persiapan bakteri *P. aeruginosa*, penentuan

dosis dengan uji MIC, uji cakram, persiapan tempat pemeliharaan ikan nila, persiapan ikan nila, serta uji LD₅₀ yang dijelaskan sebagai berikut:

a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi dilakukan sebelum alat dan bahan digunakan saat penelitian. Tujuan sterilisasi adalah untuk membunuh semua mikroorganisme yang tidak diinginkan yang menempel pada alat dan bahan yang akan digunakan. Proses sterilisasi adalah sebagai berikut:

- Alat-alat yang akan digunakan dicuci menggunakan sabun cuci, kemudian dikeringkan lalu ditutup dengan kapas dan dibungkus dengan *aluminium foil* atau plastik *wrap*.
- Bahan-bahan yang akan disterilisasi dimasukkan kedalam erlenmeyer, kemudian ditutup kapas dan dibungkus dengan plastik *wrap*.
- Akuades dituangkan ke dalam autoklaf secukupnya.
- Alat yang telah dibungkus dimasukkan kedalam autoklaf dan ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara simetris.
- Letakkan autoklaf diatas kompor dan nyalakan api.
- Ditunggu sampai autoklaf mencapai suhu 121°C dan tekanan menunjukkan 2 atm.
- Kemudian api dikecilkan selama 15 menit dan matikan kompor.
- Klep uap air dibuka agar udara di dalam autoklaf keluar.
- Setelah udara di dalam autoklaf keluar, autoklaf dibuka.
- Alat yang sudah disterilkan disimpan dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

b. Sterilisasi Tempat Perlakuan

Sterilisasi tempat perlakuan juga diperlukan untuk menghindari kontaminasi. Peralatan di sekitar tempat perlakuan harus selalu dalam kondisi aseptis. Sterilisasi tempat perlakuan dapat dilakukan secara kimia yaitu

menggunakan alkohol 70% yang disemprotkan ke sekitar tempat perlakuan. Selain itu juga, dapat dilakukan dengan cara fisika yaitu dengan menyalakan bunsen pada sekitar tempat perlakuan, serta dapat dengan cara penyinaran sinar UV yang terdapat pada ruangan *Laminary Air Flow* (LAF).

c. Pembuatan Ekstrak Kasar Kulit Buah Petai (*P. speciosa*)

Kulit buah petai (*P. speciosa*) diperoleh dari Rumah Makan Cak Uut, Malang, Jawa Timur sebanyak 8 kg. Kulit petai dibersihkan, dicuci dengan air terlebih dahulu, dan ditiriskan. Lalu, dikeringkan selama kurang lebih 1 minggu dan dikeringkan kembali menggunakan oven. Setelah kering, diblender hingga menjadi bubuk sehingga beratnya menjadi 5 kg.

Serbuk kulit buah petai direndam (maserasi) dengan cara melarutkan serbuk simplisia sebanyak 500 gram dengan 2500 ml etanol 96% kedalam toples kaca. Kemudian ditutup dengan menggunakan plastik *wrap* dan plastik atau kresek hitam, lalu didiamkan selama 72 jam (3 hari). Setelah 72 jam, sampel disaring menggunakan kertas saring sehingga diperoleh filtrat dan ampas. Filtrat dievaporasi dengan *Rotary Evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kasar kulit buah petai sebanyak 34 g dan didapatkan hasil perhitungan rendemen sebesar 6,8% yang dilampirkan pada Lampiran 5. Ekstrak hasil evaporasi diletakkan dalam botol film dan dibungkus dengan *aluminium foil*, selanjutnya disimpan pada lemari pendingin. Ekstrak tersebut diuji fitokimia untuk mendeteksi senyawa-senyawa yang terdapat didalam kulit buah petai dan memperoleh analisis yang dilampirkan pada Lampiran 3.

d. Pembuatan Media

Media yang digunakan dalam penelitian yaitu media PSA dan TSB. Proses pembuatan media adalah sebagai berikut:

1) Media PSA (*Pseudomonas Selective Agar*)

Media PSA digunakan sebagai media peremajaan bakteri *P. aeruginosa*. Dosis yang digunakan dalam pembuatan PSA sebesar 24,2/500 ml. Adapun proses pembuatan media PSA adalah sebagai berikut:

- Media PSA sebanyak 0,484 g ditimbang dengan menggunakan timbangan digital.
- Media dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan 10 ml akuades.
- Kemudian dihomogenkan hingga larut, ditutup dengan kapas dan dibungkus plastik *wrap*.
- Erlenmeyer disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama \pm 30 menit.
- Media PSA yang akan digunakan ditunggu hingga hangat, lalu dituang pada tabung reaksi.
- Tabung reaksi ditutup kapas dan dimiringkan, kemudian ditunggu hingga dingin serta berbentuk agar.
- Media dapat disimpan pada lemari pendingin dengan diberi kertas label apabila hendak digunakan kembali.

2) Media TSB (*Tryptic Soy Broth*)

Media TSB digunakan sebagai media kultur bakteri *P. aeruginosa*. Dosis yang digunakan dalam pembuatan TSB sebesar 30 g/l. Adapun proses pembuatan media TSB adalah sebagai berikut:

- Media TSB sebanyak 0,6 g ditimbang dengan menggunakan timbangan digital.
- Media dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan 20 ml akuades.
- Kemudian dihomogenkan hingga larut yang dicirikan dengan warna larutan berwarna kuning.

- Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan dibungkus plastik *wrap* serta disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama \pm 30 menit.
- Media yang akan digunakan dibiarkan dingin hingga mencapai suhu \pm 30°C, karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas.
- Media yang telah dingin kemudian dimasukkan ke dalam inkubator selama 24 jam.

e. Persiapan Bakteri *P. aeruginosa*

Bakteri *P. aeruginosa* diperoleh dari Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya, Jawa Timur. Bakteri tersebut diuji biokimia untuk mengidentifikasi dan mendeterminasi suatu biakan murni bakteri hasil isolasi melalui sifat-sifat fisiologisnya serta memperoleh analisis yang dilampirkan pada Lampiran 4. Isolat murni diremajakan pada media agar miring dan dikultur pada media cair yaitu dengan menggunakan media PSA (*Pseudomonas Selective Agar*) dan TSB (*Tryptic Soy Broth*). Adapun prosedur yang dilakukan dalam peremajaan bakteri *P. aeruginosa* adalah sebagai berikut:

- Media PSA, peralatan dan bahan lainnya disiapkan.
- Jarum ose dipanaskan diatas bunsen hingga berwarna merah menyala, lalu disentuhkan pada media yang terdapat *P. aeruginosa* murni untuk mengambil bakteri tersebut.
- Kemudian digoreskan ke media PSA, ditutup kapas dan dibungkus plastik *wrap*.
- Lalu, dibiarkan selama 24 jam didalam inkubator pada suhu 30°C.
- Setelah 24 jam, bisa langsung digunakan atau disimpan didalam lemari pendingin untuk pemakaian kembali.

Untuk mendapatkan bakteri *P. aeruginosa* dalam bentuk media cair, maka bakteri dikultur pada media TSB. Adapun prosedur yang dilakukan dalam pengkulturan bakteri *P. aeruginosa* adalah sebagai berikut:

- Media TSB, bakteri *P. aeruginosa* pada media PSA, peralatan dan bahan lainnya disiapkan.
- Jarum ose dipanaskan diatas bunsen hingga berwarna merah menyala, lalu disentuhkan pada media PSA yang terdapat *P. aeruginosa* untuk mengambil bakteri tersebut.
- Kemudian dicelupkan ke media TSB, ditutup kapas, dibungkus plastik *wrap*, dan dihomogenkan menggunakan *vortex mixer*.
- Lalu, dibiarkan selama 24 jam didalam inkubator pada suhu 30°C.
- Setelah 24 jam, media akan tampak keruh yang menandakan bakteri *P. aeruginosa* telah berkembang biak.
- Bakteri tersebut dimasukkan kedalam spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm untuk mengetahui nilai absorbansinya.
- Hasil absorbansi dicocokkan dengan metode Mc. Farland untuk memperoleh jumlah kepadatan awal bakteri *P. aeruginosa* (sel/ml) yang dilampirkan pada Lampiran 6. Adapun prosedur yang dilakukan dalam penentuan tersebut adalah sebagai berikut:
 - Pembuatan media bakteri
 - Perhitungan kepadatan bakteri
 - Menyediakan 10 tabung reaksi yang bersih.
 - Membuat larutan H₂SO₄ murni dalam 1% dan membuat larutan BaCl dalam 1%.
 - Campurkan kedua jenis larutan tersebut kedalam tabung berdasarkan perbandingan yang ada pada tabel sehingga isi dari satu tabung tersebut menjadi 10 ml larutan. Kemudian tabung-tabung tersebut ditutup.

- Suspensi larutan yang terdapat dalam tabung tersebut sama dengan jumlah suspensi bakteri *P. aeruginosa* per ml.

Kepadatan awal bakteri yang diperoleh dari perhitungan Mc. Farland adalah sebesar 3×10^8 sel/ml. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini seharusnya memiliki kepadatan sebesar 10^7 sel/ml. Untuk itu dilakukan pengenceran bakteri agar diperoleh kepadatan yang diinginkan.

f. Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Minimum Inhibitory Concentration (MIC) adalah konsentrasi minimum sebagai antimikroba yang dapat menghambat mikroorganisme sesudah 18 sampai dengan 24 jam setelah masa inkubasi (Soelama, Kepel dan Siagian, 2015). MIC dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi terkecil bahan obat-obatan (ekstrak kasar kulit buah petai) sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme (bakteri *P. aeruginosa*) secara makroskopis. Adapun prosedur uji MIC yang dilampirkan pada Lampiran 7 adalah sebagai berikut:

- Disiapkan TSB steril yang dimasukkan kedalam 7 tabung reaksi sebanyak 5 ml.
- Setiap tabung reaksi diberi isolat bakteri sebanyak 1 ml.
- Kemudian ekstrak kasar kulit buah petai dimasukkan kedalam 5 tabung reaksi dengan dosis yang berbeda pada setiap tabungnya sebanyak 1 ml. Dosis yang digunakan pada uji MIC ini adalah 1000 ppm, 500 ppm, 100 ppm, 10 ppm, 1 ppm dan perhitungannya dilampirkan pada Lampiran 8.
- Untuk kontrol positif tidak diberi ekstrak, tetapi diberi antibiotik *Tetracycline* 30 ppm. Sedangkan untuk kontrol negatif tidak diberi ekstrak maupun antibiotik.
- Lalu, diinkubasi dengan suhu 30°C selama 24 jam.
- Media dicek kekeruhannya dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm.

- Dicatat nilai absorbansi yang tertera pada monitor spektrofotometer.

g. Uji Cakram

Uji cakram dilakukan untuk mengetahui daya hambat dari pemberian ekstrak *P. speciosa* yang dilihat dari diameter zona bening yang berada pada sekitar kertas cakram (*blank disk*) dengan *blank disk*. Adapun prosedur uji cakram yang dilampirkan pada Lampiran 9 adalah sebagai berikut:

- Disiapkan PSA steril yang dimasukkan kedalam 3 cawan petri sebanyak 25 ml.
- Bakteri yang telah diinokulasi pada media TSB digoreskan pada cawan petri yang terdapat media PSA dengan metode sebar. Penanaman dilakukan pada *Laminary Air Flow* (LAF) agar kondisi tetap steril dan tidak terkontaminasi.
- Kemudian *blank disk* direndam pada masing-masing konsentrasi yang telah ditentukan selama 15 menit.
- *Blank disk* ditiriskan dan diletakkan pada media PSA yang telah ditanami bakteri.
- Lalu, diinkubasi selama 24 jam dengan suhu ruang 30°C.
- Diukur diameter zona bening yang berada pada sekitar *blank disk* dengan *blank disk* tersebut menggunakan jangka sorong untuk menentukan konsentrasi optimum yang dapat menghambat bakteri.

h. Persiapan Ikan Nila (*O. niloticus*)

Ikan uji yang digunakan yaitu ikan nila yang berasal dari UPR Sumber Mina Lestari, Desa Sumber Sekar, Dusun Banjar Tengah, Kecamatan Dau, Malang, Jawa Timur. Ikan yang digunakan sebanyak 200 ekor dengan ukuran 8-10 cm yang telah berumur 60 hari. Ikan nila (*O. niloticus*) diadaptasikan (aklimatisasi) selama 1 minggu di dalam akuarium. Kemudian dimasukkan kedalam masing-masing toples sebanyak 10 ekor/m³ (Siantara, Limantara, Dewi dan Widawati, 2017).

i. **Uji Lethal Dose 50% (LD₅₀)**

Dosis ekstrak yang didapat setelah dilakukan uji MIC adalah sebesar 10, 25, 40 dan 55 ppm. Setelah didapatkan dosisnya, masing-masing ekstrak dilarutkan kedalam 10 liter air. Ikan nila (*O. niloticus*) sebanyak 40 ekor dimasukkan kedalam 4 toples plastik (masing-masing 10 ekor) dengan dosis yang berbeda. Perendaman dilakukan sampai kematian ikan 50% dalam *range* waktu 48 jam.

Berdasarkan uji diatas, ikan yang berada pada toples berisi dosis 55 ppm mengalami kematian 20%, sedangkan pada dosis 10 ppm, 25 ppm dan 40 ppm tidak bersifat toksis sehingga tidak mengakibatkan ikan nila mati. Hal ini dikarenakan pada dosis 55 ppm memiliki kadar ekstrak kulit buah petai (*P. speciosa*) yang tinggi sehingga menyebabkan toksik di media budidaya. Uji LD₅₀ dilakukan untuk melihat jumlah ikan yang mati harus dibawah 50% dalam kurun waktu 48 jam (2 hari).

3.4.2 Pelaksanaan Penelitian

a. **Penginfeksian Ikan Nila (*O. niloticus*) dengan Bakteri *P. aeruginosa***

Media (air) yang belum digunakan di-*treatment* terlebih dahulu dengan diendapkan selama 24 jam. Setelah 24 jam air siap untuk digunakan. Kemudian disiapkan toples plastik dan *aerator set*, lalu masing-masing toples diisi air sebanyak 10 liter (2/3 volume air) dan diberi aerasi. Penginfeksian dilakukan maksimal 24 jam sebelum perendaman ekstrak. Penginfeksian menggunakan bakteri *P. aeruginosa* dengan metode perendaman pada toples yang berbeda dengan kepadatan bakteri 10⁷ sel/ml. Untuk mengetahui kebutuhan bakteri yang digunakan dalam penginfeksian, maka dilakukan pengenceran yang perhitungannya dilampirkan pada Lampiran 10. Adapun rumus perhitungan pengenceran tersebut menurut Permatasari, Besung dan Mahatmi (2013), yaitu:

$$V_1.N_1 = V_2.N_2$$

Keterangan :

N_1 : Kepadatan populasi bakteri dalam media TSB (sel/ml)

N_2 : Kepadatan populasi bakteri yang dikehendaki (sel/ml)

V_1 : Volume suspensi bakteri dalam TSB yang dibutuhkan

V_2 : Volume media air dalam wadah pemeliharaan ikan

Berdasarkan rumus perhitungan diatas diketahui kebutuhan bakteri yang digunakan adalah sebesar 0,333 L atau 333 ml, sedangkan air tawar yang digunakan adalah sebanyak 9,667 L atau 9667 ml. Selanjutnya, 180 ekor ikan nila dimasukkan kedalam 18 toples (masing-masing 10 ekor) dan direndam selama 24 jam sampai ikan menunjukkan gejala klinis (terdapat borok pada tubuh ikan, warna tubuh pucat, hemoragik, sisik mudah lepas dan kasar serta pendarahan pada organ dalam). Setelah diinfeksi selama 24 jam, ikan dipindahkan ke toples pengobatan dengan perlakuan yang berbeda.

b. Pemberian Ekstrak Kasar Kulit Buah Petai (*P. speciosa*) pada Ikan Nila (*O. niloticus*)

Media (air) yang belum digunakan di-*treatment* terlebih dahulu dengan diendapkan selama 24 jam. Setelah 24 jam air siap untuk digunakan. Kemudian disiapkan toples plastik dan *aerator set*, lalu masing-masing toples diisi air sebanyak 10 liter (2/3 volume air) dan diberi aerasi. Setelah itu diberi perlakuan ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dengan dosis yang berbeda yaitu 10 ppm, 25 ppm, 40 ppm dan 55 ppm. Untuk mengetahui kebutuhan ekstrak dan antibiotik yang digunakan dalam pengobatan, maka dilakukan perhitungan dosis yang dilampirkan pada Lampiran 11. Berdasarkan perhitungan diketahui kebutuhan ekstrak kasar kulit buah petai adalah sebesar 1,3 g/40 L dan antibiotik *Tetracycline* adalah sebesar 0,3 g/10 L. Tahap selanjutnya adalah 10 ekor ikan nila dimasukkan kedalam 18 toples (masing-masing 10 ekor) dan direndam

selama 48 jam. Setelah direndam selama 48 jam, ikan dipindahkan ke toples yang berisi air tanpa ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*).

3.5 Uji Hematologi

3.5.1 Pengambilan Sampel Darah

Sampel darah ikan diambil dengan menggunakan spuit (suntik) berukuran 1 ml. Sebelum digunakan, spuit dibilas dengan EDTA (*Ethylene Diamine Tetraacetic Acid*) sebagai anti koagulan (Payung dan Manoppo, 2015). Kemudian disuntik pada bagian *caudal peduncle* dengan posisi jarum 45°C dan ditarik perlahan-lahan sampai darah masuk kedalam spuit. Sampel darah tersebut dimasukkan kedalam *appendorf*.

3.5.2 Pembuatan Preparat dan Perhitungan Sel Darah

a. Sel Darah Merah (Eritrosit)

Sampel darah yang telah dicampur dengan EDTA diambil dengan menggunakan pipet toma eritrosit sampai skala 0,5. Kemudian larutan hayem juga diambil sampai skala menunjukkan pada angka 100. Pipet dihomogenkan dan empat tetes pertama dibuang. Tetesan berikutnya diteteskan pada *haemocytometer* dan ditutup dengan *cover glass*. Setelah itu, diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x dan dihitung jumlah eritrositnya. Menurut Dianti, Prayitno dan Ariyati (2013), rumus perhitungan eritrosit adalah sebagai berikut:

$$\sum N \times 10^4 \text{ sel mm}^3$$

Keterangan :

N : Jumlah eritrosit yang terhitung

b. Sel Darah Putih (Leukosit)

Sampel darah yang telah dicampur dengan EDTA diambil dengan menggunakan pipet toma leukosit sampai skala 0,5. Kemudian larutan turk juga

diambil sampai skala menunjukkan pada angka 101. Pipet dihomogenkan dan empat tetesan pertama dibuang dan tetesan berikutnya ditetaskan pada *haemocytometer*. Setelah itu, ditutup dengan *cover glass* dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x serta dihitung jumlah leukositnya. Menurut Royan, *et al.* (2014), rumus perhitungan leukosit adalah sebagai berikut:

$$\Sigma N \times 50 \text{ sel mm}^3$$

Keterangan :

N : Jumlah leukosit yang terhitung

c. Diferensial Leukosit

Sampel darah yang telah diambil, ditetaskan pada *object glass*. *Object glass* kedua diletakkan dengan kemiringan 45° di atas *object glass* pertama. Kemudian, *object glass* digeser ke arah yang berlawanan sehingga membentuk suatu lapisan darah tipis. Lalu preparat tersebut dibiarkan hingga kering, difiksasi dengan diberi metanol selama 5 menit, dibilas dengan akuades dan dikeringkan kembali. Setelah itu, preparat diberi larutan giemsa 10% selama 10 menit, dibilas dengan akuades dan dikeringkan kembali. Selanjutnya, diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x dan dihitung limfosit, monosit serta neutrofilnya. Menurut Hartika, Mustahal dan Putra (2014), rumus persentase diferensial leukosit adalah sebagai berikut:

$$\% \text{ Limfosit} = \frac{L}{100} \times 100\%$$

$$\% \text{ Monosit} = \frac{M}{100} \times 100\%$$

$$\% \text{ Neutrofil} = \frac{N}{100} \times 100\%$$

Keterangan :

L : Jumlah limfosit

M : Jumlah monosit

N : Jumlah neutrofil

d. Hematokrit

Menurut Nuryati, Giri dan Hadiroseyani (2008), kadar hematokrit diukur dengan cara menyelupkan salah satu ujung tabung mikrohematokrit ke dalam *appendorf* yang berisi darah. Darah akan merambat secara kapiler sampai $\frac{3}{4}$ bagian tabung. Ujung tabung yang berisi darah ditutup menggunakan *crystoceal* dan disentrifugasi menggunakan *hemofuge* dengan kecepatan 5000 rpm. Ukur panjang bagian darah yang mengendap (a) serta panjang total volume darah yang terdapat dalam tabung (b). Rumus kadar hematokrit adalah sebagai berikut:

$$\text{Kadar Hematokrit} = \frac{a}{b} \times 100\%$$

Keterangan:

- a : Panjang darah yang mengendap
b : Panjang total darah dalam tabung

e. Hemoglobin

Prosedur perhitungan kadar hemoglobin dilakukan dengan mengacu pada metode Sahli. Pertama, darah sampel dihisap dengan menggunakan pipet Sahli hingga skala 20 mm³ atau pada skala 0,2 ml. Lalu ujung pipet dibersihkan dengan tisu. Kemudian, darah dalam pipet dipindahkan ke dalam tabung Hb-meter yang telah diisi HCl 0,1 N hingga skala 2. Setelah itu, diaduk dengan batang pengaduk hingga homogen. Selanjutnya, akuades ditambahkan ke dalam tabung tersebut hingga warna darah tersebut menjadi seperti warna larutan standar yang ada dalam Hb-meter. Kadar hemoglobin dinyatakan dalam G% (Hartika, *et al.*, 2014).

3.6 Parameter Uji

3.6.1 Parameter Utama

Parameter utama yang diamati dalam penelitian ini adalah hematologi ikan nila (*O. niloticus*) yang meliputi sel darah merah (eritrosit), sel darah putih

(leukosit), diferensial leukosit (limfosit, monosit, neutrofil), hematokrit, serta hemoglobin.

3.6.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Uji MIC dan cakram
- Gejala klinis pada ikan nila (*O. niloticus*)
- Tingkat kelulushidupan (*survival rate*)
- Parameter kualitas air seperti suhu yang diukur menggunakan termometer, pH air yang diukur menggunakan pH meter, dan oksigen terlarut yang diukur menggunakan DO meter.

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dilakukan analisis secara statistik dengan mempergunakan analisis keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang dipergunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon parameter yang diukur atau uji F. Apabila nilai uji berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk menentukan perbedaan antar perlakuan. Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dengan gejala klinis dan efek kerusakan terhadap hematologi ikan nila secara kuantitatif, digunakan uji polinomial ortogonal yang memberikan keterangan mengenai pengaruh perlakuan terbaik.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji Pendahuluan

Berdasarkan uji MIC yang menggunakan dosis 1000 ppm, 500 ppm, 100 ppm, 10 ppm, dan 1 ppm diperoleh hasil warna yang bening dan keruh. Adapun hasil dari uji MIC disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Pengamatan Uji MIC

No.	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Warna
1.	1000	0,058	Bening
2.	500	0,105	Bening
3.	100	0,157	Bening
4.	10	0,188	Bening
5.	1	0,204	Keruh
6.	K+	0,188	Bening
7.	K-	0,518	Keruh

Hasil diatas menunjukkan bahwa dosis 10 ppm dapat menghambat bakteri *P. aeruginosa* dikarenakan dosis tersebut mendekati nilai kontrol positif. Selain itu juga, dikarenakan bakteri *P. aeruginosa* merupakan bakteri yang sensitif dan termasuk dalam bakteri HPIK (Hama dan Penyakit Ikan Karantina). Untuk mengetahui zona hambat atau zona bening pada cawan petri yang telah diberi kertas cakram, maka perlu dilakukan uji cakram. Adapun hasil dari uji cakram disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Pengamatan Uji Cakram

	Perlakuan	Nilai Cakram
D1	A (10 ppm)	6,8
	B (25 ppm)	6,75
	C (40 ppm)	8,55
	D (55 ppm)	9,8
D2	A (10 ppm)	7,4
	B (25 ppm)	8,4
	C (40 ppm)	9,3
	D (55 ppm)	10,25

Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh data uji cakram yang disajikan pada Tabel 6. Pengamatan terdiri dengan 4 perlakuan yakni A=10 ppm, B=25 ppm, C=40 ppm, dan D=55 ppm serta 3 kali ulangan. Ekstrak yang digunakan

untuk pengobatan ialah ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*). Pengamatan tersebut memperoleh hasil rata-rata uji cakram yang dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Rataan Uji Cakram

Perlakuan	D1	D2	Total	Rerata ± STDV
A (10 ppm)	6.80	7.40	14.20	7.10 ± 0.4243
B (25 ppm)	6.75	8.40	15.15	7.58 ± 1.1667
C (40 ppm)	8.55	9.30	17.85	8.93 ± 0.5303
D (55 ppm)	9.80	10.25	20.05	10.03 ± 0.3182
Total	31.90	35.35	67.25	
Rerata	7.98	8.84		

Nilai rata-rata uji cakram yang mengacu pada Tabel 7 memperoleh hasil yang beragam. Hasil tertinggi ditunjukkan pada perlakuan D dengan dosis 55 ppm. Hasil tersebut lebih besar dibandingkan perlakuan lainnya. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap bakteri *P. aeruginosa* selama pengamatan, maka dilakukan uji sidik ragam. Perhitungan analisis sidik ragam nilai uji cakram selama pengamatan dapat dilihat pada Lampiran 12. Sedangkan hasil analisis sidik ragam nilai uji cakram selama pengamatan tersebut disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Analisis Sidik Ragam Uji Cakram

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	10.57	3.52	7.33*	6.59	16.69
Acak	4	1.92	0.48			
Total	7	12.50				

Keterangan : * = berbeda nyata

Analisis sidik ragam pada Tabel 8 menunjukkan hasil F hitung sebesar 7,33. Nilai F hitung memiliki hasil yang lebih besar daripada F hitung 5% dan lebih kecil daripada F hitung 1%, sehingga dapat disimpulkan bahwa nilai uji cakram berbeda nyata. Hal ini dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai berpengaruh nyata terhadap bakteri *P. aeruginosa*. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, maka perhitungan dilanjutkan dengan uji BNT. Perhitungan uji BNT nilai uji cakram selama pengamatan dilampirkan pada

Lampiran 12. Sedangkan hasil uji BNT nilai uji cakram pengamatan tersebut dapat dilihat pada Tabel 9.

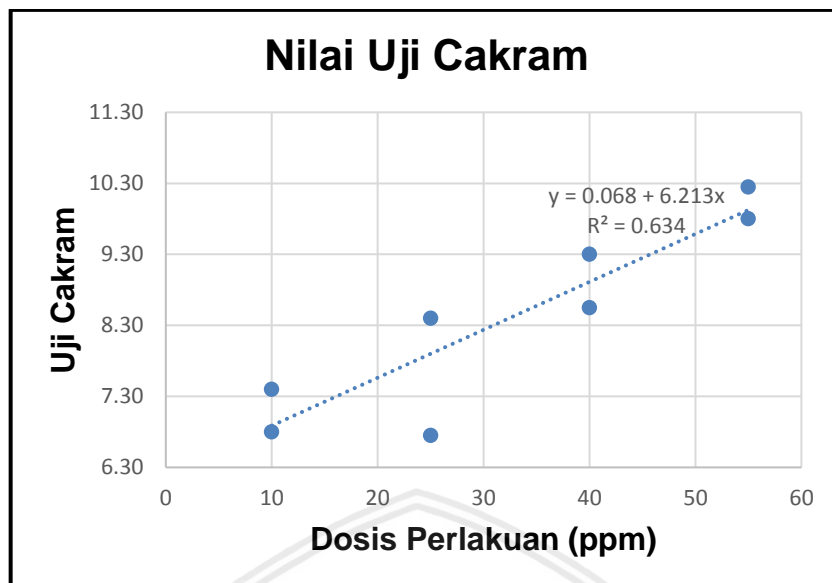
Tabel 9. Uji BNT Nilai Uji Cakram

Perlakuan	Rerata	A 7.10	B 7.58	C 8.93	D 10.03	Notasi
A	7.10	-	-	-	-	a
B	7.58	0.48 ^{ns}	-	-	-	a
C	8.93	1.83 ^{ns}	1.35 ^{ns}	-	-	a
D	10.03	2.93*	2.45*	1.10 ^{ns}	-	ab

Keterangan : ns = tidak berbeda nyata; * = berbeda nyata

Hasil uji BNT yang mengacu pada Tabel 9 menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dapat mempengaruhi bakteri *P. aeruginosa*. Pengamatan uji cakram memperoleh hasil perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B dan C, namun berbeda nyata terhadap perlakuan D. Sedangkan perlakuan B tidak berbeda nyata dengan perlakuan C, tetapi berbeda nyata terhadap perlakuan D. Untuk perlakuan C berbeda nyata dengan perlakuan D. Perlakuan terbaik adalah perlakuan D diikuti dengan perlakuan C, B, dan A.

Selanjutnya untuk mengetahui bentuk hubungan antara perlakuan dengan parameter yang diuji, maka perhitungan dilanjutkan dengan uji polinomial ortogonal. Perhitungan uji polinomial ortogonal nilai uji cakram selama pengamatan dapat dilihat pada Lampiran 12. Sedangkan grafik regresi nilai uji cakram pengamatan tersebut disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Grafik regresi uji cakram.

Data hasil yang disajikan pada Gambar 5 menunjukkan grafik linier antara perlakuan dan parameter yang diuji. Hasil persamaan yang diperoleh ialah $y = 0,068 + 6,213x$ dan $R^2 = 0,634$. Hal ini berarti bahwa ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) yang diberikan berpengaruh terhadap bakteri *P. aeruginosa* sebesar 63%, sedangkan 37% pengaruh dari faktor lain.

Berdasarkan hasil diatas dapat disimpulkan bahwa uji cakram mengalami kenaikan. Hal ini disebabkan karena ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) telah bereaksi pada bakteri *P. aeruginosa*. Perlakuan tertinggi adalah perlakuan D dengan dosis 55 ppm, sedangkan perlakuan terendah ialah perlakuan A dengan dosis 10 ppm. Menurut Pasaribu, Longdong dan Mudeng (2015), senyawa flavonoid yang terdapat didalam ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dapat berfungsi sebagai antioksidan, antikanker, antibakteri, antiaterosklerotik, imunomodulator, antidiabetes, antiinflamasi. Apabila semakin banyak ekstrak yang diberikan, maka semakin menghambat bakteri tersebut. Pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) membuktikan dapat menghambat perkembangan bakteri *P. aeruginosa*.

Oleh karena itu, hasil uji MIC dan cakram tersebut digunakan untuk acuan dosis perlakuan penelitian. Dosis untuk setiap perlakuan tersebut yakni sebesar 10 ppm, 25 ppm, 40 ppm, dan 55 ppm.

4.2 Analisis Hematologi

Analisis gambaran parameter darah (hematologis) penting untuk dilakukan mengingat penyakit yang menyerang ikan nila (*O. niloticus*) bermacam-macam. Menurut Riauwaty dan Syawal (2016), apabila terdapat bibit penyakit atau bahan polutan yang masuk ke dalam tubuh ikan, maka akan merubah kondisi fisiologis ikan seperti perubahan hematologi. Ikan yang terinfeksi akan mengalami perubahan pada kadar sel darahnya. Hal ini didukung oleh Sarkiah, Rimalia dan Iskandar (2016), bahwa kadar hematokrit, jumlah eritrosit, dan kadar hemoglobin merupakan indikator utama untuk mengetahui perubahan aktivitas ikan. Aktivitas yang dimaksud ialah aktivitas yang tidak normal pada ikan. Parameter yang diamati pada penelitian ini ialah jumlah sel darah merah (eritrosit), jumlah sel darah putih (leukosit), jumlah diferensial leukosit (limfosit, monosit, dan neutrofil), kadar hematokrit, serta kadar hemoglobin.

Penelitian dilakukan dengan 4 perlakuan yakni A=10 ppm, B=25 ppm, C=40 ppm, dan D=55 ppm serta 3 kali ulangan. Penelitian ini menggunakan ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) sebagai bahan pengobatan bagi ikan nila. Berdasarkan analisis uji fitokimia yang dilampirkan pada Lampiran 3, ekstrak tersebut mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, terpenoid, dan saponin. Menurut Akbar (2018), flavonoid berperan sebagai antioksidan yang mencegah kelebihan maupun kekurangan sel darah merah. Senyawa flavonoid termasuk senyawa yang dibutuhkan paling banyak mengingat fungsinya sebagai penghambat bakteri untuk berkembang dan menjaga kestabilan jumlah sel darah. Sedangkan senyawa alkaloid menurut pendapat Anggraini, Fakhurrazi dan Harris (2017),

adalah senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel. Menurut Pasaribu, *et al.* (2015), senyawa saponin berfungsi sebagai permeabilisasi membran, bersifat hipokolesterolemik dan juga dapat mempengaruhi pertumbuhan serta meningkatkan respon makan pada ikan.

4.2.1 Jumlah Sel Darah Merah (Eritrosit)

Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh jumlah dan dokumentasi eritrosit ikan nila (*O. niloticus*) yang dilampirkan pada Lampiran 13 serta Lampiran 23. Pengamatan ini dilakukan sebanyak 4 kali setiap 12 jam sekali yakni pada saat 12 jam, 24 jam, 36 jam, dan 48 jam setelah penginfeksi. Hasil rata-rata eritrosit ikan nila (*O. niloticus*) yang diperoleh selama pengamatan dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Rataan Eritrosit ($\times 10^6$ sel/mm³) Ikan Nila (*O. niloticus*) selama Pengamatan

Pengamatan	Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata \pm STDV
		1	2	3		
12 jam (infeksi)	A (10 ppm)	1.56	1.54	1.55	4.65	1.55 \pm 0.0100
	B (25 ppm)	1.55	1.53	1.54	4.62	1.54 \pm 0.0100
	C (40 ppm)	1.54	1.51	1.52	4.57	1.52 \pm 0.0153
	D (55 ppm)	1.53	1.50	1.51	4.54	1.51 \pm 0.0153
24 jam (infeksi)	A (10 ppm)	1.40	1.38	1.39	4.17	1.39 \pm 0.0100
	B (25 ppm)	1.38	1.37	1.38	4.13	1.38 \pm 0.0058
	C (40 ppm)	1.37	1.35	1.36	4.08	1.36 \pm 0.0100
	D (55 ppm)	1.37	1.34	1.35	4.06	1.35 \pm 0.0153
36 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	1.44	1.43	1.48	4.35	1.45 \pm 0.0265
	B (25 ppm)	1.56	1.45	1.58	4.59	1.53 \pm 0.0700
	C (40 ppm)	1.57	1.49	1.64	4.70	1.57 \pm 0.0751
	D (55 ppm)	1.66	1.68	1.72	5.06	1.69 \pm 0.0306
48 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	1.60	1.55	1.59	4.74	1.58 \pm 0.0265
	B (25 ppm)	1.62	1.74	1.75	5.11	1.70 \pm 0.0723
	C (40 ppm)	1.67	1.77	1.76	5.20	1.73 \pm 0.0551
	D (55 ppm)	1.78	1.82	1.84	5.44	1.81 \pm 0.0306

Nilai rata-rata eritrosit ikan nila (*O. niloticus*) yang mengacu pada Tabel 10 memperoleh hasil yang beragam. Hasil tertinggi ditunjukkan pada perlakuan D dengan dosis 55 ppm pengamatan 48 jam. Hasil tersebut lebih besar dibandingkan perlakuan lainnya. Untuk mengetahui pengaruh penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* dan pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap eritrosit ikan nila (*O. niloticus*) selama pengamatan, maka dilakukan uji sidik ragam. Perhitungan analisis sidik ragam nilai eritrosit selama pengamatan dapat dilihat pada Lampiran 13. Sedangkan hasil analisis sidik ragam nilai eritrosit selama pengamatan tersebut disajikan pada Tabel 11.

Tabel 11. Analisis Sidik Ragam Jumlah Eritrosit Ikan Nila (*O. niloticus*) selama Pengamatan

Perlakuan	Fhit				F 5%	F 1%
	12 jam	24 jam	36 jam	48 jam		
A (10 ppm)						
B (25 ppm)						
C (40 ppm)	4.87*	7.05*	9.56**	11.37**	4.07	7.59
D (55 ppm)						

Keterangan : * = berbeda nyata; ** = berbeda sangat nyata

Analisis sidik ragam pada Tabel 11 menunjukkan nilai F hitung yang bermacam. Jika nilainya lebih besar daripada F5% dan lebih kecil daripada F1%, maka termasuk kedalam kategori berbeda nyata. Sedangkan apabila nilai F hitung lebih besar daripada F5% dan F1%, maka termasuk kedalam kategori berbeda sangat nyata. Pada pengamatan 12 dan 24 jam memperoleh hasil berbeda nyata. Sedangkan pada pengamatan 36 dan 48 jam memperoleh hasil berbeda sangat nyata. Hal ini dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai berpengaruh sangat nyata terhadap eritrosit ikan nila yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, maka perhitungan dilanjutkan dengan uji BNT. Perhitungan uji BNT nilai eritrosit selama pengamatan dilampirkan pada Lampiran 13. Sedangkan hasil uji BNT nilai eritrosit selama pengamatan tersebut dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Uji BNT Nilai Eritrosit Ikan Nila (*O. niloticus*) selama Pengamatan

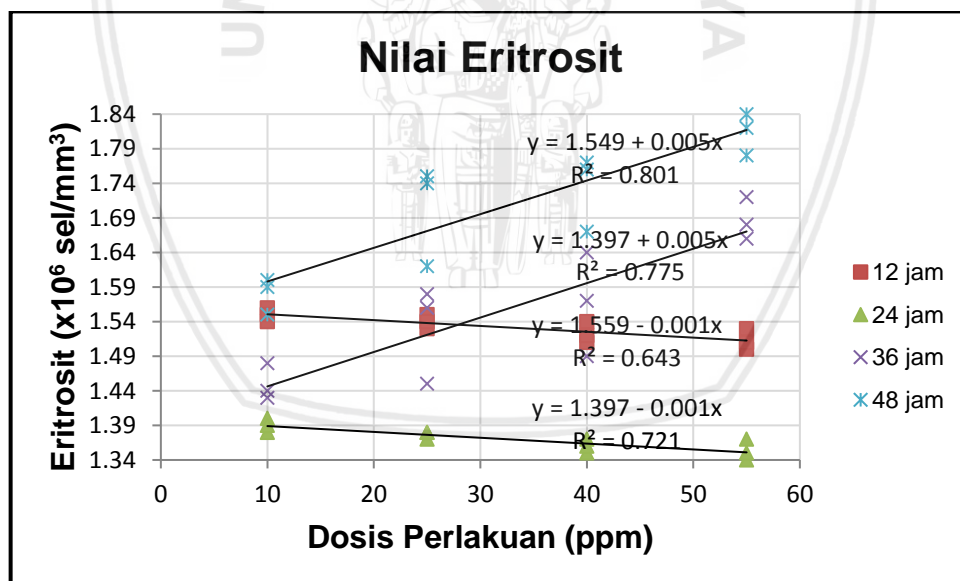
Pengamatan	Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
12 jam (infeksi)	A (10 ppm)	1.55	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	1.54	0.01 ^{ns}	-	-	-	a
	C (40 ppm)	1.52	0.03*	0.02 ^{ns}	-	-	ab
	D (55 ppm)	1.51	0.04**	0.03*	0.01 ^{ns}	-	bc
24 jam (infeksi)	A (10 ppm)	1.39	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	1.38	0.01 ^{ns}	-	-	-	a
	C (40 ppm)	1.36	0.03**	0.02*	-	-	b
	D (55 ppm)	1.35	0.04**	0.02*	0.01 ^{ns}	-	bc
36 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	1.45	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	1.53	0.08 ^{ns}	-	-	-	a
	C (40 ppm)	1.57	0.12*	0.04 ^{ns}	-	-	ab
	D (55 ppm)	1.69	0.24**	0.16**	0.12*	-	c
48 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	1.58	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	1.70	0.12*	-	-	-	b
	C (40 ppm)	1.73	0.15**	0.03 ^{ns}	-	-	bc
	D (55 ppm)	1.81	0.23**	0.11*	0.08 ^{ns}	-	cd

Keterangan : ns = tidak berbeda nyata; * = berbeda nyata; ** = berbeda sangat nyata

Hasil uji BNT yang mengacu pada Tabel 12 menunjukkan bahwa penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* dan pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dapat mempengaruhi produksi eritrosit ikan nila (*O. niloticus*). Pada pengamatan 12 jam memperoleh hasil perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B dan C, namun berbeda nyata terhadap perlakuan D. Sedangkan perlakuan B tidak berbeda nyata dengan perlakuan C, tetapi berbeda nyata terhadap perlakuan D. Untuk perlakuan C tidak berbeda nyata dengan perlakuan D. Pada pengamatan 24 jam memperoleh hasil perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B, namun berbeda sangat nyata terhadap perlakuan C dan D. Sedangkan perlakuan B berbeda sangat nyata dengan perlakuan C dan D. Untuk perlakuan C tidak berbeda nyata dengan perlakuan D. Pada pengamatan 36 jam hasil memperoleh perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B dan C, namun berbeda sangat nyata terhadap perlakuan D. Sedangkan perlakuan B berbeda nyata dengan perlakuan C, tetapi berbeda

sangat nyata terhadap perlakuan D. Untuk perlakuan C berbeda sangat nyata dengan perlakuan D. Pada pengamatan 48 jam memperoleh hasil perlakuan A berbeda sangat nyata dengan perlakuan B, C, dan D. Sedangkan perlakuan B berbeda nyata dengan perlakuan C, tetapi berbeda sangat nyata terhadap perlakuan D. Untuk perlakuan C berbeda nyata dengan perlakuan D. Perlakuan terbaik pada pengamatan adalah perlakuan D diikuti dengan perlakuan C, B, dan A.

Selanjutnya untuk mengetahui bentuk hubungan antara perlakuan dengan parameter yang diuji, maka perhitungan dilanjutkan dengan uji polinomial ortogonal. Perhitungan uji polinomial ortogonal nilai eritrosit selama pengamatan dapat dilihat pada Lampiran 13. Sedangkan grafik regresi nilai eritrosit selama pengamatan tersebut disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Grafik regresi eritrosit ikan nila (*O. niloticus*) selama pengamatan.

Data hasil yang disajikan pada Gambar 6 menunjukkan grafik linier antara perlakuan dan parameter yang diuji. Hasil persamaan yang diperoleh pada pengamatan 12 jam ialah $y = 1,559 - 0,001x$ dan $R^2 = 0,643$. Hal ini berarti bahwa penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* berpengaruh terhadap jumlah eritrosit ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 64%, sedangkan 36% pengaruh dari

faktor lain. Sedangkan hasil persamaan pada pengamatan 24 jam ialah $y = 1,397 - 0,001x$ dan $R^2 = 0,721$ yang berarti bahwa penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* berpengaruh terhadap jumlah eritrosit ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 72%, sedangkan 28% pengaruh dari faktor lain. Kemudian hasil persamaan pada pengamatan 36 jam ialah $y = 1,397 + 0,005x$ dan $R^2 = 0,775$. Hal ini berarti bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) berpengaruh terhadap jumlah eritrosit ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 77%, sedangkan 23% pengaruh dari faktor lain. Hasil persamaan pada pengamatan 48 jam ialah $y = 1,549 + 0,005x$ dan $R^2 = 0,801$ yang berarti bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) berpengaruh terhadap jumlah eritrosit ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 80%, sedangkan 20% pengaruh dari faktor lain.

Berdasarkan hasil diatas dapat disimpulkan bahwa jumlah eritrosit mengalami penurunan pada pengamatan 24 jam. Hal ini disebabkan pada pengamatan tersebut, bakteri *P. aeruginosa* mulai menginfeksi ikan nila (*O. niloticus*) sehingga mempengaruhi penurunan produksi eritrosit. Menurut Maftuch, Nursyam dan Sukarni (2012), penurunan jumlah sel darah merah menandakan ikan dalam keadaan stres dan adanya indikasi masuknya benda asing kedalam tubuh sehingga mengakibatkan proses metabolisme ikan terhambat. Penurunan jumlah sel darah merah biasanya diiringi dengan penurunan oksigen yang ada di dalam tubuh ikan. Namun, terjadi peningkatan produksi eritrosit pada pengamatan 48 jam dengan kisaran $1,58 \times 10^6$ sel/mm³ hingga $1,81 \times 10^6$ sel/mm³ karena ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) telah bereaksi pada bakteri *P. aeruginosa*. Perlakuan tertinggi adalah perlakuan D dengan dosis 55 ppm dikarenakan jumlah eritrosit sudah mencapai batas normal atau mendekati kontrol positif. Sedangkan perlakuan terendah ialah perlakuan A dengan dosis 10 ppm karena terjadi anemia atau kekurangan sel darah merah akibat rendahnya suplai oksigen kedalam tubuh (hipoksia). Hal ini

sesuai dengan pendapat Tjay dan Rahardja (2007), bahwa sel darah merah berfungsi menyuplai oksigen kedalam tubuh ikan. Biasanya sel darah merah mempunyai jangka waktu hidup yang relatif singkat yaitu 120 hari. Setelah itu mengalami disintegrasi dan mati. Sel yang mati diganti dengan sel baru yang diproduksi oleh sumsum tulang belakang. Pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) membuktikan dapat meningkatkan jumlah eritrosit dan menghambat perkembangan bakteri *P. aeruginosa*.

4.2.2 Jumlah Sel Darah Putih (Leukosit)

Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh jumlah dan dokumentasi leukosit ikan nila (*O. niloticus*) yang dilampirkan pada Lampiran 14 serta Lampiran 23. Pengamatan ini dilakukan sebanyak 4 kali setiap 12 jam sekali yakni pada saat 12 jam, 24 jam, 36 jam, dan 48 jam setelah penginfeksi. Hasil rata-rata leukosit ikan nila (*O. niloticus*) yang diperoleh selama pengamatan dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Rataan Leukosit ($\times 10^4$ sel/mm³) Ikan Nila (*O. niloticus*) selama Pengamatan

Pengamatan	Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata \pm STDV
		1	2	3		
12 jam (infeksi)	A (10 ppm)	19.45	19.25	20.10	58.80	19.60 \pm 0.4444
	B (25 ppm)	20.45	19.20	19.05	58.70	19.57 \pm 0.7687
	C (40 ppm)	20.10	21.15	20.95	62.20	20.73 \pm 0.5575
	D (55 ppm)	22.20	20.25	21.80	64.25	21.42 \pm 1.0300
24 jam (infeksi)	A (10 ppm)	19.75	19.35	20.15	59.25	19.75 \pm 0.4000
	B (25 ppm)	20.55	19.40	19.20	59.15	19.72 \pm 0.7286
	C (40 ppm)	20.05	21.20	21.10	62.35	20.78 \pm 0.6371
	D (55 ppm)	22.35	20.75	21.90	65.00	21.67 \pm 0.8251
36 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	18.20	18.35	17.95	54.50	18.17 \pm 0.2021
	B (25 ppm)	18.10	18.30	17.75	54.15	18.05 \pm 0.2784
	C (40 ppm)	17.85	17.25	16.60	51.70	17.23 \pm 0.6252
	D (55 ppm)	16.70	16.15	15.45	48.30	16.10 \pm 0.6265
48 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	16.60	16.85	15.90	49.35	16.45 \pm 0.4924
	B (25 ppm)	16.35	16.75	15.55	48.65	16.22 \pm 0.6110
	C (40 ppm)	15.30	15.45	14.80	45.55	15.18 \pm 0.3403
	D (55 ppm)	14.20	14.65	14.05	42.90	14.30 \pm 0.3122

Nilai rata-rata leukosit ikan nila (*O. niloticus*) yang mengacu pada Tabel 13 memperoleh hasil yang beragam. Hasil terendah ditunjukkan pada perlakuan D dengan dosis 55 ppm pengamatan 48 jam. Hasil tersebut lebih kecil dibandingkan perlakuan lainnya. Untuk mengetahui pengaruh penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* dan pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap leukosit ikan nila (*O. niloticus*) selama pengamatan, maka dilakukan uji sidik ragam. Perhitungan analisis sidik ragam nilai leukosit selama pengamatan dapat dilihat pada Lampiran 14. Sedangkan hasil analisis sidik ragam nilai leukosit selama pengamatan tersebut disajikan pada Tabel 14.

Tabel 14. Analisis Sidik Ragam Jumlah Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus*) selama Pengamatan

Perlakuan	Fhit				F 5%	F 1%
	12 jam	24 jam	36 jam	48 jam		
A (10 ppm)						
B (25 ppm)						
C (40 ppm)	4.55*	5.89*	12.10**	14.23**	4.07	7.59
D (55 ppm)						

Keterangan : * = berbeda nyata; ** = berbeda sangat nyata

Analisis sidik ragam pada Tabel 14 menunjukkan nilai F hitung yang bermacam. Jika nilainya lebih besar daripada F5% dan lebih kecil daripada F1%, maka termasuk kedalam kategori berbeda nyata. Sedangkan apabila nilai F hitung lebih besar daripada F5% dan F1%, maka termasuk kedalam kategori berbeda sangat nyata. Pada pengamatan 12 dan 24 jam memperoleh hasil berbeda nyata. Sedangkan pada pengamatan 36 dan 48 jam memperoleh hasil berbeda sangat nyata. Hal ini dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai berpengaruh sangat nyata terhadap leukosit ikan nila yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, maka perhitungan dilanjutkan dengan uji BNT. Perhitungan uji BNT nilai leukosit selama pengamatan dilampirkan pada Lampiran 14. Sedangkan hasil uji BNT nilai leukosit selama pengamatan tersebut dapat dilihat pada Tabel 15.

Tabel 15. Uji BNT Nilai Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus*) selama Pengamatan

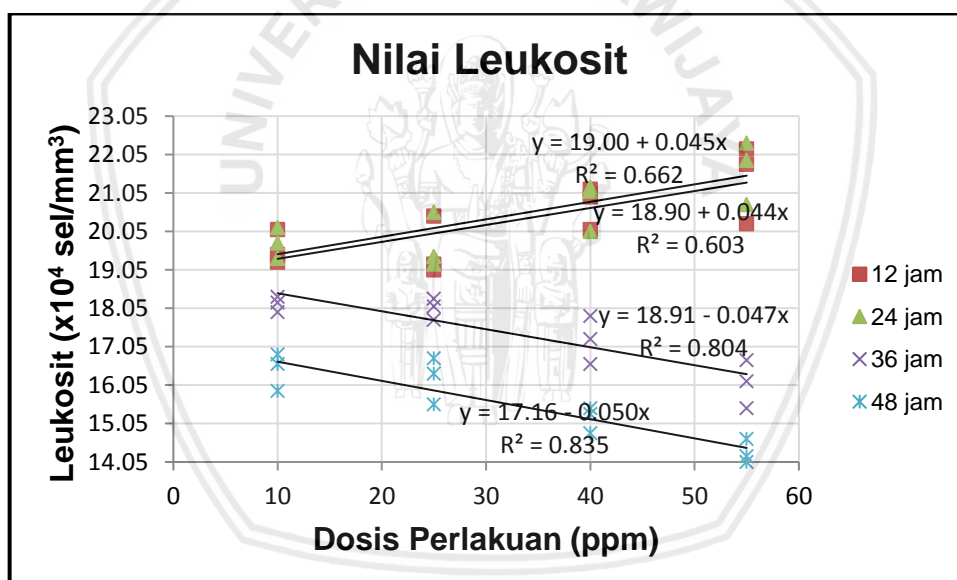
Pengamatan	Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
12 jam (infeksi)	A (10 ppm)	19.60	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	19.57	0.03 ^{ns}	-	-	-	a
	C (40 ppm)	20.73	1.13 ^{ns}	1.17 ^{ns}	-	-	ab
	D (55 ppm)	21.42	1.82*	1.85*	0.68 ^{ns}	-	b
24 jam (infeksi)	A (10 ppm)	19.75	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	19.72	0.03 ^{ns}	-	-	-	a
	C (40 ppm)	20.78	1.03 ^{ns}	1.07 ^{ns}	-	-	ab
	D (55 ppm)	21.67	1.92**	1.95**	0.88 ^{ns}	-	b
36 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	18.17	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	18.05	0.12 ^{ns}	-	-	-	a
	C (40 ppm)	17.23	0.93*	0.82 ^{ns}	-	-	ab
	D (55 ppm)	16.10	2.07**	1.95**	1.13*	-	c
48 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	16.45	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	16.22	0.23 ^{ns}	-	-	-	a
	C (40 ppm)	15.18	1.27**	1.03*	-	-	b
	D (55 ppm)	14.30	2.15**	1.92**	0.88*	-	c

Keterangan : ns = tidak berbeda nyata; * = berbeda nyata; ** = berbeda sangat nyata

Hasil uji BNT yang mengacu pada Tabel 15 menunjukkan bahwa penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* dan pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dapat mempengaruhi produksi leukosit ikan nila (*O. niloticus*). Pada pengamatan 12 jam memperoleh hasil perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B dan C, namun berbeda nyata terhadap perlakuan D. Sedangkan perlakuan B tidak berbeda nyata dengan perlakuan C, tetapi berbeda nyata terhadap perlakuan D. Untuk perlakuan C berbeda nyata dengan perlakuan D. Sama halnya dengan pengamatan 24 jam yang juga memperoleh hasil seperti pengamatan 12 jam. Pada pengamatan 36 jam memperoleh hasil perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B, namun berbeda nyata terhadap perlakuan C dan berbeda sangat nyata terhadap perlakuan D. Sedangkan perlakuan B berbeda nyata dengan perlakuan C, tetapi berbeda sangat nyata terhadap perlakuan D. Untuk perlakuan C berbeda sangat nyata dengan perlakuan D. Pada pengamatan 48 jam memperoleh hasil perlakuan A

tidak berbeda nyata dengan perlakuan B, namun berbeda sangat nyata terhadap perlakuan C dan D. Sedangkan perlakuan B berbeda sangat nyata dengan perlakuan C dan D. Untuk perlakuan C berbeda sangat nyata dengan perlakuan D. Perlakuan terbaik pada pengamatan adalah perlakuan D diikuti dengan perlakuan C, B, dan A.

Selanjutnya untuk mengetahui bentuk hubungan antara perlakuan dengan parameter yang diuji, maka perhitungan dilanjutkan dengan uji polinomial ortogonal. Perhitungan uji polinomial ortogonal nilai leukosit selama pengamatan dapat dilihat pada Lampiran 14. Sedangkan grafik regresi nilai leukosit selama pengamatan tersebut disajikan pada Gambar 7.



Gambar 7. Grafik regresi leukosit ikan nila (*O. niloticus*) selama pengamatan.

Data hasil yang disajikan pada Gambar 6 menunjukkan grafik linier antara perlakuan dan parameter yang diuji. Hasil persamaan yang diperoleh pada pengamatan 12 jam ialah $y = 18,90 + 0,044x$ dan $R^2 = 0,603$. Hal ini berarti bahwa penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* berpengaruh terhadap jumlah leukosit ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 60%, sedangkan 40% pengaruh dari faktor lain. Sedangkan hasil persamaan pada pengamatan 24 jam ialah $y = 19,00 + 0,045x$ dan $R^2 = 0,662$ yang berarti bahwa penginfeksi bakteri *P. aeruginosa*

berpengaruh terhadap jumlah leukosit ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 66%, sedangkan 34% pengaruh dari faktor lain. Kemudian hasil persamaan pada pengamatan 36 jam ialah $y = 18,91 - 0,047x$ dan $R^2 = 0,804$. Hal ini berarti bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) berpengaruh terhadap jumlah leukosit ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 80%, sedangkan 20% pengaruh dari faktor lain. Hasil persamaan pada pengamatan 48 jam ialah $y = 17,16 - 0,050x$ dan $R^2 = 0,835$ yang berarti bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) berpengaruh terhadap jumlah leukosit ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 83%, sedangkan 17% pengaruh dari faktor lain.

Berdasarkan hasil diatas dapat disimpulkan bahwa jumlah leukosit mengalami peningkatan pada pengamatan 24 jam. Hal ini disebabkan pada pengamatan tersebut, bakteri *P. aeruginosa* mulai menginfeksi ikan nila (*O. niloticus*) sehingga mempengaruhi peningkatan produksi leukosit. Menurut Moyle dan Cech (2004), ikan yang sakit akan menghasilkan banyak sel darah putih untuk memfagosit bakteri dan mensintesis antibodi. Selain itu, sel darah putih membantu dalam membersihkan tubuh dari benda asing termasuk invasi patogen melalui sistem tanggap kebal dan respon lainnya. Namun, terjadi penurunan produksi leukosit pada pengamatan 48 jam dengan kisaran $14,30 \times 10^4$ sel/mm³ hingga $16,45 \times 10^4$ sel/mm³ karena ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) telah bereaksi pada bakteri *P. aeruginosa*. Penurunan jumlah leukosit mengindikasikan bahwa ikan yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa* sedang mengalami proses penyembuhan. Perlakuan terendah adalah perlakuan D dengan dosis 55 ppm dikarenakan jumlah leukosit sudah mencapai batas normal atau mendekati kontrol positif. Sedangkan perlakuan tertinggi ialah perlakuan A dengan dosis 10 ppm karena leukosit memiliki peran sebagai sistem pertahanan tubuh yang menghalangi patogen untuk masuk. Hal ini sesuai dengan pendapat Santoso, Basuki dan Hastuti (2013), bahwa sel darah putih itu sendiri berfungsi

sebagai pertahanan non spesifik yang akan melokalisasi dan mengeliminasi patogen. Sel darah putih akan berkembang lebih banyak ke areal infeksi sebagai usaha pertahanan tubuh. Peningkatan jumlah sel darah putih terjadi setelah infeksi dan kemudian akan menurun satu minggu setelahnya karena digantikan oleh antibodi. Pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) membuktikan dapat menurunkan jumlah leukosit yang berlebihan dan menghambat perkembangan bakteri *P. aeruginosa*.

4.2.3 Jumlah Diferensial Leukosit

a. Limfosit

Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh jumlah dan dokumentasi limfosit ikan nila (*O. niloticus*) yang dilampirkan pada Lampiran 15 serta Lampiran 23. Pengamatan ini dilakukan sebanyak 4 kali setiap 12 jam sekali yakni pada saat 12 jam, 24 jam, 36 jam, dan 48 jam setelah penginfeksi. Hasil rata-rata limfosit ikan nila (*O. niloticus*) yang diperoleh selama pengamatan dapat dilihat pada Tabel 16.

Tabel 16. Rataan Limfosit (%) Ikan Nila (*O. niloticus*) selama Pengamatan

Pengamatan	Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata \pm STDV
		1	2	3		
12 jam (infeksi)	A (10 ppm)	86.00	84.00	87.00	257.00	85.67 \pm 1.5275
	B (25 ppm)	87.00	85.00	86.00	258.00	86.00 \pm 1.0000
	C (40 ppm)	87.00	88.00	89.00	264.00	88.00 \pm 1.0000
	D (55 ppm)	88.00	89.00	88.00	265.00	88.33 \pm 0.5774
24 jam (infeksi)	A (10 ppm)	93.00	92.00	92.00	277.00	92.33 \pm 0.5774
	B (25 ppm)	95.00	93.00	94.00	282.00	94.00 \pm 1.0000
	C (40 ppm)	93.00	94.00	93.00	280.00	93.33 \pm 0.5774
	D (55 ppm)	96.00	95.00	94.00	285.00	95.00 \pm 1.0000
36 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	89.00	90.00	88.00	267.00	89.00 \pm 1.0000
	B (25 ppm)	87.00	89.00	87.00	263.00	87.67 \pm 1.1547
	C (40 ppm)	86.00	88.00	85.00	259.00	86.33 \pm 1.5275
	D (55 ppm)	85.00	86.00	84.00	255.00	85.00 \pm 1.0000
48 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	87.00	89.00	88.00	264.00	88.00 \pm 1.0000
	B (25 ppm)	86.00	86.00	87.00	259.00	86.33 \pm 0.5774
	C (40 ppm)	85.00	86.00	86.00	257.00	85.67 \pm 0.5774
	D (55 ppm)	85.00	85.00	84.00	254.00	84.67 \pm 0.5774

Nilai rata-rata limfosit ikan nila (*O. niloticus*) yang mengacu pada Tabel 16 memperoleh hasil yang beragam. Hasil terendah ditunjukkan pada perlakuan D dengan dosis 55 ppm pengamatan 48 jam. Hasil tersebut lebih kecil dibandingkan perlakuan lainnya. Untuk mengetahui pengaruh penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* dan pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap limfosit ikan nila (*O. niloticus*) selama pengamatan, maka dilakukan uji sidik ragam. Perhitungan analisis sidik ragam nilai limfosit selama pengamatan dapat dilihat pada Lampiran 15. Sedangkan hasil analisis sidik ragam nilai limfosit selama pengamatan tersebut disajikan pada Tabel 17.

Tabel 17. Analisis Sidik Ragam Jumlah Limfosit Ikan Nila (*O. niloticus*) selama Pengamatan

Perlakuan	Fhit				F 5%	F 1%
	12 jam	24 jam	36 jam	48 jam		
A (10 ppm)						
B (25 ppm)						
C (40 ppm)	4.76*	5.67*	6.27*	11.78**	4.07	7.59
D (55 ppm)						

Keterangan : * = berbeda nyata; ** = berbeda sangat nyata

Analisis sidik ragam pada Tabel 17 menunjukkan nilai F hitung yang bermacam. Jika nilainya lebih besar daripada F5% dan lebih kecil daripada F1%, maka termasuk kedalam kategori berbeda nyata. Sedangkan apabila nilai F hitung lebih besar daripada F5% dan F1%, maka termasuk kedalam kategori berbeda sangat nyata. Pada pengamatan 12, 24, dan 36 jam memperoleh hasil berbeda nyata. Sedangkan pada pengamatan 48 jam memperoleh hasil berbeda sangat nyata. Hal ini dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai berpengaruh nyata dan sangat nyata terhadap limfosit ikan nila yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, maka perhitungan dilanjutkan dengan uji BNT. Perhitungan uji BNT nilai limfosit selama pengamatan dilampirkan pada Lampiran 15. Sedangkan hasil uji BNT nilai limfosit selama pengamatan tersebut dapat dilihat pada Tabel 18.

Tabel 18. Uji BNT Nilai Limfosit Ikan Nila (*O. niloticus*) selama Pengamatan

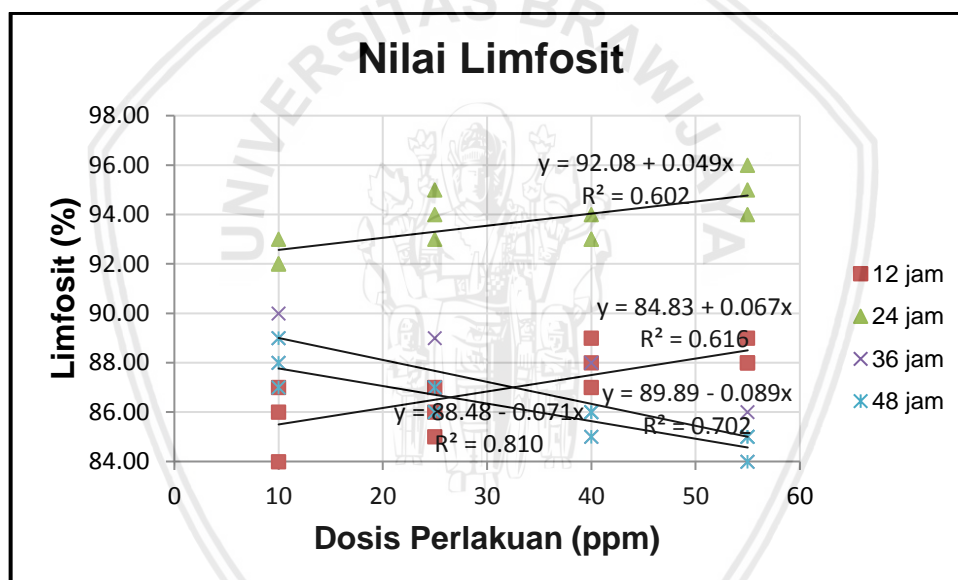
Pengamatan	Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
12 jam (infeksi)	A (10 ppm)	85.67	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	86.00	0.33 ^{ns}	-	-	-	a
	C (40 ppm)	88.00	2.33*	2.00 ^{ns}	-	-	ab
	D (55 ppm)	88.33	2.67*	2.33*	0.33 ^{ns}	-	bc
24 jam (infeksi)	A (10 ppm)	92.33	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	94.00	1.67*	-	-	-	b
	C (40 ppm)	93.33	1.00 ^{ns}	0.67 ^{ns}	-	-	b
	D (55 ppm)	95.00	2.67**	1.00 ^{ns}	1.67*	-	bc
36 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	89.00	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	87.67	1.33 ^{ns}	-	-	-	a
	C (40 ppm)	86.33	2.67*	1.33 ^{ns}	-	-	ab
	D (55 ppm)	85.00	4.00**	2.67*	1.33 ^{ns}	-	bc
48 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	88.00	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	86.33	1.67*	-	-	-	b
	C (40 ppm)	85.67	2.33**	0.67 ^{ns}	-	-	bc
	D (55 ppm)	84.67	3.33**	1.67*	1.00 ^{ns}	-	cd

Keterangan : ns = tidak berbeda nyata; * = berbeda nyata; ** = berbeda sangat nyata

Hasil uji BNT yang mengacu pada Tabel 18 menunjukkan bahwa penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* dan pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dapat mempengaruhi produksi limfosit ikan nila (*O. niloticus*). Pada pengamatan 12 jam memperoleh hasil perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B, namun berbeda nyata terhadap perlakuan C dan berbeda sangat nyata terhadap perlakuan D. Sedangkan perlakuan B berbeda nyata dengan perlakuan C, tetapi berbeda sangat nyata terhadap perlakuan D. Untuk perlakuan C berbeda nyata dengan perlakuan D. Pada pengamatan 24 jam memperoleh hasil perlakuan A berbeda sangat nyata dengan perlakuan B, C, dan D. Sedangkan perlakuan B tidak berbeda nyata dengan perlakuan C, tetapi berbeda nyata terhadap perlakuan D. Untuk perlakuan C berbeda nyata dengan perlakuan D. Pada pengamatan 36 jam memperoleh hasil yang sama seperti pengamatan 12 jam. Pada pengamatan 48 jam memperoleh hasil perlakuan A berbeda sangat nyata dengan perlakuan B, C, dan D. Sedangkan perlakuan B

berbeda nyata dengan perlakuan C, tetapi berbeda sangat nyata terhadap perlakuan D. Untuk perlakuan C berbeda nyata dengan perlakuan D. Perlakuan terbaik pada pengamatan adalah perlakuan D diikuti dengan perlakuan C, B, dan A.

Selanjutnya untuk mengetahui bentuk hubungan antara perlakuan dengan parameter yang diuji, maka perhitungan dilanjutkan dengan uji polinomial ortogonal. Perhitungan uji polinomial ortogonal nilai limfosit selama pengamatan dapat dilihat pada Lampiran 15. Sedangkan grafik regresi nilai limfosit selama pengamatan tersebut disajikan pada Gambar 8.



Gambar 8. Grafik regresi limfosit ikan nila (*O. niloticus*) selama pengamatan.

Data hasil yang disajikan pada Gambar 8 menunjukkan grafik linier antara perlakuan dan parameter yang diuji. Hasil persamaan yang diperoleh pada pengamatan 12 jam ialah $y = 84,83 + 0,067x$ dan $R^2 = 0,616$. Hal ini berarti bahwa penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* berpengaruh terhadap jumlah limfosit ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 61%, sedangkan 39% pengaruh dari faktor lain. Sedangkan hasil persamaan pada pengamatan 24 jam ialah $y = 92,08 + 0,049x$ dan $R^2 = 0,602$ yang berarti bahwa penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* berpengaruh terhadap jumlah limfosit ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 60%,

sedangkan 40% pengaruh dari faktor lain. Kemudian hasil persamaan pada pengamatan 36 jam ialah $y = 89,89 - 0,089x$ dan $R^2 = 0,702$. Hal ini berarti bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) berpengaruh terhadap jumlah limfosit ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 70%, sedangkan 30% pengaruh dari faktor lain. Hasil persamaan pada pengamatan 48 jam ialah $y = 88,48 - 0,071x$ dan $R^2 = 0,810$ yang berarti bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) berpengaruh terhadap jumlah limfosit ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 81%, sedangkan 19% pengaruh dari faktor lain.

Berdasarkan hasil diatas dapat disimpulkan bahwa jumlah limfosit mengalami peningkatan pada pengamatan 24 jam. Hal ini disebabkan pada pengamatan tersebut, bakteri *P. aeruginosa* mulai menginfeksi ikan nila (*O. niloticus*) sehingga mempengaruhi peningkatan produksi limfosit. Menurut Baratawidjaja (2012), peningkatan limfosit yang dihasilkan ikan nila berperan cukup besar terhadap peningkatan respon imun atau ketahanan tubuh ikan nila terhadap serangan penyakit dan infeksi. Limfosit tidak bersifat fagositik namun memegang peranan penting dalam pembentukan antibodi. Peningkatan limfosit tersebut biasanya diringi dengan peningkatan sel darah putih karena termasuk kedalam komponen sel darah tersebut. Namun, terjadi penurunan produksi limfosit pada pengamatan 48 jam dengan kisaran 84,67% hingga 88,00% karena ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) telah bereaksi pada bakteri *P. aeruginosa*. Penurunan jumlah limfosit mengindikasikan bahwa ikan yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa* sedang mengalami proses penyembuhan. Perlakuan terendah adalah perlakuan D dengan dosis 55 ppm dikarenakan jumlah limfosit sudah mencapai batas normal atau mendekati kontrol positif. Sedangkan perlakuan tertinggi ialah perlakuan A dengan dosis 10 ppm karena limfosit merupakan sel penghasil antibodi yang berfungsi menjaga kekebalan tubuh. Hal ini sesuai dengan pendapat Nuryati, *et al.* (2008), bahwa limfosit

memiliki peran dalam menghasilkan antibodi dan menjaga kondisi tubuh ikan agar tetap baik. Limfosit ini tidak menelan benda-benda asing yang masuk kedalam tubuh atau tidak bersifat fagosit, tetapi hanya menjaga ketahanan tubuh ikan saja. Pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) membuktikan dapat menurunkan jumlah limfosit yang berlebihan dan menghambat perkembangan bakteri *P. aeruginosa*.

b. Monosit

Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh jumlah dan dokumentasi monosit ikan nila (*O. niloticus*) yang dilampirkan pada Lampiran 16 serta Lampiran 23. Pengamatan ini dilakukan sebanyak 4 kali setiap 12 jam sekali yakni pada saat 12 jam, 24 jam, 36 jam, dan 48 jam setelah penginfeksi. Hasil rata-rata monosit ikan nila (*O. niloticus*) yang diperoleh selama pengamatan dapat dilihat pada Tabel 19.

Tabel 19. Rataan Monosit (%) Ikan Nila (*O. niloticus*) selama Pengamatan

Pengamatan	Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± STDV
		1	2	3		
12 jam (infeksi)	A (10 ppm)	7.00	8.00	6.00	21.00	7.00 ± 1.0000
	B (25 ppm)	8.00	9.00	7.00	24.00	8.00 ± 1.0000
	C (40 ppm)	9.00	11.00	8.00	28.00	9.33 ± 1.5275
	D (55 ppm)	10.00	12.00	10.00	32.00	10.67 ± 1.1547
24 jam (infeksi)	A (10 ppm)	9.00	10.00	9.00	28.00	9.33 ± 0.5774
	B (25 ppm)	10.00	11.00	12.00	33.00	11.00 ± 1.0000
	C (40 ppm)	11.00	14.00	13.00	38.00	12.67 ± 1.5275
	D (55 ppm)	12.00	14.00	16.00	42.00	14.00 ± 2.0000
36 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	9.00	9.00	8.00	26.00	8.67 ± 0.5774
	B (25 ppm)	8.00	9.00	6.00	23.00	7.67 ± 1.5275
	C (40 ppm)	7.00	7.00	6.00	20.00	6.67 ± 0.5774
	D (55 ppm)	5.00	6.00	5.00	16.00	5.33 ± 0.5774
48 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	8.00	8.00	7.00	23.00	7.67 ± 0.5774
	B (25 ppm)	7.00	6.00	6.00	19.00	6.33 ± 0.5774
	C (40 ppm)	6.00	5.00	4.00	15.00	5.00 ± 1.0000
	D (55 ppm)	5.00	4.00	4.00	13.00	4.33 ± 0.5774

Nilai rata-rata monosit ikan nila (*O. niloticus*) yang mengacu pada Tabel 19 memperoleh hasil yang beragam. Hasil terendah ditunjukkan pada perlakuan D dengan dosis 55 ppm pengamatan 48 jam. Hasil tersebut lebih kecil dibandingkan perlakuan lainnya. Untuk mengetahui pengaruh penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* dan pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap monosit ikan nila (*O. niloticus*) selama pengamatan, maka dilakukan uji sidik ragam. Perhitungan analisis sidik ragam nilai monosit selama pengamatan dapat dilihat pada Lampiran 16. Sedangkan hasil analisis sidik ragam nilai monosit selama pengamatan tersebut disajikan pada Tabel 20.

Tabel 20. Analisis Sidik Ragam Jumlah Monosit Ikan Nila (*O. niloticus*) selama Pengamatan

Perlakuan	Fhit				F 5%	F 1%
	12 jam	24 jam	36 jam	48 jam		
A (10 ppm)						
B (25 ppm)						
C (40 ppm)	5.39*	6.42*	7.30*	13.11**	4.07	7.59
D (55 ppm)						

Keterangan : * = berbeda nyata; ** = berbeda sangat nyata

Analisis sidik ragam pada Tabel 20 menunjukkan nilai F hitung yang bermacam. Jika nilainya lebih besar daripada F5% dan lebih kecil daripada F1%, maka termasuk kedalam kategori berbeda nyata. Sedangkan apabila nilai F hitung lebih besar daripada F5% dan F1%, maka termasuk kedalam kategori berbeda sangat nyata. Pada pengamatan 12, 24, dan 36 jam memperoleh hasil berbeda nyata. Sedangkan pada pengamatan 48 jam memperoleh hasil berbeda sangat nyata. Hal ini dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai berpengaruh nyata dan sangat nyata terhadap monosit ikan nila yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, maka perhitungan dilanjutkan dengan uji BNT. Perhitungan uji BNT nilai monosit selama pengamatan dilampirkan pada Lampiran 16. Sedangkan hasil uji BNT nilai monosit selama pengamatan tersebut dapat dilihat pada Tabel 21.

Tabel 21. Uji BNT Nilai Monosit Ikan Nila (*O. niloticus*) selama Pengamatan

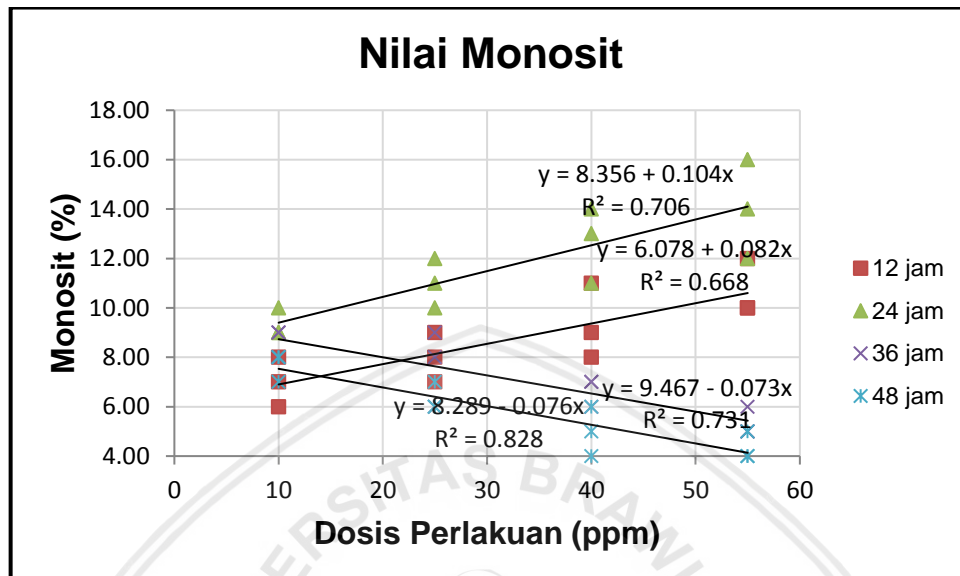
Pengamatan	Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
12 jam (infeksi)	A (10 ppm)	7.00	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	8.00	1.00 ^{ns}	-	-	-	a
	C (40 ppm)	9.33	2.33*	1.33 ^{ns}	-	-	ab
	D (55 ppm)	10.67	3.67**	2.67*	1.33 ^{ns}	-	bc
24 jam (infeksi)	A (10 ppm)	9.33	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	11.00	1.67 ^{ns}	-	-	-	a
	C (40 ppm)	12.67	3.33*	1.67 ^{ns}	-	-	ab
	D (55 ppm)	14.00	4.67**	3.00*	1.33 ^{ns}	-	bc
36 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	8.67	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	7.67	1.00 ^{ns}	-	-	-	a
	C (40 ppm)	6.67	2.00*	1.00 ^{ns}	-	-	ab
	D (55 ppm)	5.33	3.33**	2.33*	1.33 ^{ns}	-	bc
48 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	7.67	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	6.33	1.33 ^{ns}	-	-	-	a
	C (40 ppm)	5.00	2.67**	1.33 ^{ns}	-	-	ab
	D (55 ppm)	4.33	3.33**	2.00**	0.67 ^{ns}	-	bc

Keterangan : ns = tidak berbeda nyata; * = berbeda nyata; ** = berbeda sangat nyata

Hasil uji BNT yang mengacu pada Tabel 21 menunjukkan bahwa penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* dan pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dapat mempengaruhi produksi monosit ikan nila (*O. niloticus*). Pada pengamatan 12 jam memperoleh hasil perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B, namun berbeda nyata terhadap perlakuan C dan berbeda sangat nyata terhadap perlakuan D. Sedangkan perlakuan B berbeda nyata dengan perlakuan C, tetapi berbeda sangat nyata terhadap perlakuan D. Untuk perlakuan C berbeda nyata dengan perlakuan D. Sama halnya dengan pengamatan 24, 36, dan 48 jam memperoleh hasil seperti pengamatan 12 jam. Perlakuan terbaik pada pengamatan adalah perlakuan D diikuti dengan perlakuan C, B, dan A.

Selanjutnya untuk mengetahui bentuk hubungan antara perlakuan dengan parameter yang diuji, maka perhitungan dilanjutkan dengan uji polinomial ortogonal. Perhitungan uji polinomial ortogonal nilai monosit selama pengamatan

dapat dilihat pada Lampiran 16. Sedangkan grafik regresi nilai monosit selama pengamatan tersebut disajikan pada Gambar 9.



Gambar 9. Grafik regresi monosit ikan nila (*O. niloticus*) selama pengamatan.

Data hasil yang disajikan pada Gambar 9 menunjukkan grafik linier antara perlakuan dan parameter yang diuji. Hasil persamaan yang diperoleh pada pengamatan 12 jam ialah $y = 6,078 + 0,082x$ dan $R^2 = 0,668$. Hal ini berarti bahwa penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* berpengaruh terhadap jumlah monosit ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 66%, sedangkan 34% pengaruh dari faktor lain. Sedangkan hasil persamaan pada pengamatan 24 jam ialah $y = 8,356 + 0,104x$ dan $R^2 = 0,706$ yang berarti bahwa penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* berpengaruh terhadap jumlah monosit ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 70%, sedangkan 30% pengaruh dari faktor lain. Kemudian hasil persamaan pada pengamatan 36 jam ialah $y = 9,467 - 0,073x$ dan $R^2 = 0,731$. Hal ini berarti bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) berpengaruh terhadap jumlah monosit ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 73%, sedangkan 27% pengaruh dari faktor lain. Hasil persamaan pada pengamatan 48 jam ialah $y = 8,289 - 0,076x$ dan $R^2 = 0,828$ yang berarti bahwa pemberian ekstrak kasar kulit

buah petai (*P. speciosa*) berpengaruh terhadap jumlah monosit ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 82%, sedangkan 18% pengaruh dari faktor lain.

Berdasarkan hasil diatas dapat disimpulkan bahwa jumlah monosit mengalami peningkatan pada pengamatan 24 jam. Hal ini disebabkan pada pengamatan tersebut, bakteri *P. aeruginosa* mulai menginfeksi ikan nila (*O. niloticus*) sehingga mempengaruhi peningkatan produksi monosit. Menurut Affandi dan Tang (2002), pada saat terjadi infeksi oleh benda asing, maka monosit akan bergerak cepat meninggalkan pembuluh darah menuju daerah yang terinfeksi untuk melakukan fagositosis. Monosit memiliki kemampuan menembus dinding pembuluh kapiler, kemudian masuk ke jaringan dan berdiferensiasi menjadi makrofag. Monosit berperan sebagai makrofag, dimana jika monosit tidak terlalu banyak dibutuhkan untuk memfagosit dikarenakan belum ada infeksi yang masuk kedalam tubuh, maka tidak akan merangsang produksi monosit. Namun, terjadi penurunan produksi monosit pada pengamatan 48 jam dengan kisaran 4,33% hingga 7,67% karena ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) telah bereaksi pada bakteri *P. aeruginosa*. Penurunan jumlah monosit mengindikasikan bahwa ikan yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa* sedang mengalami proses penyembuhan. Perlakuan terendah adalah perlakuan D dengan dosis 55 ppm dikarenakan jumlah monosit sudah mencapai batas normal atau mendekati kontrol positif. Sedangkan perlakuan tertinggi ialah perlakuan A dengan dosis 10 ppm karena monosit memiliki peran sebagai sistem imun yang menghalangi patogen untuk masuk. Hal ini sesuai dengan pendapat Roberts (2001), monosit merupakan sel yang berasal dari organ hemopoietik (yaitu penghasil sel darah) berupa ginjal. Monosit berfungsi sebagai agen makrofag yang memfagosit atau menelan benda asing yang masuk kedalam tubuh. Peningkatan monosit biasanya terjadi dalam waktu singkat tergantung dengan kondisi tubuh ikan. Apabila ikan terinfeksi oleh bakteri, maka monosit

akan memproduksi lebih banyak untuk menelan benda asing maupun bakteri tersebut. Peningkatan monosit tersebut biasanya diikuti dengan peningkatan sel darah putih karena termasuk kedalam komponen sel darah tersebut. Infeksi yang masuk kedalam tubuh akan merangsang sel darah putih untuk memproduksi monosit lebih banyak. Pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) membuktikan dapat menurunkan jumlah monosit yang berlebihan dan menghambat perkembangan bakteri *P. aeruginosa*.

c. Neutrofil

Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh jumlah dan dokumentasi neutrofil ikan nila (*O. niloticus*) yang dilampirkan pada Lampiran 17 serta Lampiran 23. Pengamatan ini dilakukan sebanyak 4 kali setiap 12 jam sekali yakni pada saat 12 jam, 24 jam, 36 jam, dan 48 jam setelah penginfeksi. Hasil rata-rata neutrofil ikan nila (*O. niloticus*) yang diperoleh selama pengamatan dapat dilihat pada Tabel 22.

Tabel 22. Rataan Neutrofil (%) Ikan Nila (*O. niloticus*) selama Pengamatan

Pengamatan	Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± STDV
		1	2	3		
12 jam (infeksi)	A (10 ppm)	14.00	16.00	15.00	45.00	15.00 ± 1.0000
	B (25 ppm)	15.00	17.00	16.00	48.00	16.00 ± 1.0000
	C (40 ppm)	16.00	17.00	17.00	50.00	16.67 ± 0.5774
	D (55 ppm)	17.00	18.00	18.00	53.00	17.67 ± 0.5774
24 jam (infeksi)	A (10 ppm)	16.00	18.00	17.00	51.00	17.00 ± 1.0000
	B (25 ppm)	17.00	19.00	18.00	54.00	18.00 ± 1.0000
	C (40 ppm)	18.00	19.00	20.00	57.00	19.00 ± 1.0000
	D (55 ppm)	20.00	21.00	22.00	63.00	21.00 ± 1.0000
36 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	15.00	17.00	16.00	48.00	16.00 ± 1.0000
	B (25 ppm)	14.00	16.00	15.00	45.00	15.00 ± 1.0000
	C (40 ppm)	13.00	14.00	14.00	41.00	13.67 ± 0.5774
	D (55 ppm)	12.00	13.00	13.00	38.00	12.67 ± 0.5774
48 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	14.00	16.00	15.00	45.00	15.00 ± 1.0000
	B (25 ppm)	13.00	15.00	14.00	42.00	14.00 ± 1.0000
	C (40 ppm)	12.00	13.00	13.00	38.00	12.67 ± 0.5774
	D (55 ppm)	11.00	11.00	12.00	34.00	11.33 ± 0.5774

Nilai rata-rata neutrofil ikan nila (*O. niloticus*) yang mengacu pada Tabel 22 memperoleh hasil yang beragam. Hasil terendah ditunjukkan pada perlakuan D dengan dosis 55 ppm pengamatan 48 jam. Hasil tersebut lebih kecil dibandingkan perlakuan lainnya. Untuk mengetahui pengaruh penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* dan pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap neutrofil ikan nila (*O. niloticus*) selama pengamatan, maka dilakukan uji sidik ragam. Perhitungan analisis sidik ragam nilai neutrofil selama pengamatan dapat dilihat pada Lampiran 17. Sedangkan hasil analisis sidik ragam nilai neutrofil selama pengamatan tersebut disajikan pada Tabel 23.

Tabel 23. Analisis Sidik Ragam Jumlah Neutrofil Ikan Nila (*O. niloticus*) selama Pengamatan

Perlakuan	Fhit				F 5%	F 1%
	12 jam	24 jam	36 jam	48 jam		
A (10 ppm)						
B (25 ppm)						
C (40 ppm)	5.67*	8.75**	9.67**	11.46**	4.07	7.59
D (55 ppm)						

Keterangan : * = berbeda nyata; ** = berbeda sangat nyata

Analisis sidik ragam pada Tabel 23 menunjukkan nilai F hitung yang bermacam. Jika nilainya lebih besar daripada F5% dan lebih kecil daripada F1%, maka termasuk kedalam kategori berbeda nyata. Sedangkan apabila nilai F hitung lebih besar daripada F5% dan F1%, maka termasuk kedalam kategori berbeda sangat nyata. Pada pengamatan 12 jam memperoleh hasil berbeda nyata. Sedangkan pada pengamatan 24, 36, dan 48 jam memperoleh hasil berbeda sangat nyata. Hal ini dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai berpengaruh sangat nyata terhadap neutrofil ikan nila yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, maka perhitungan dilanjutkan dengan uji BNT. Perhitungan uji BNT nilai neutrofil selama pengamatan dilampirkan pada Lampiran 17. Sedangkan hasil uji BNT nilai neutrofil selama pengamatan tersebut dapat dilihat pada Tabel 24.

Tabel 24. Uji BNT Nilai Neutrofil Ikan Nila (*O. niloticus*) selama Pengamatan

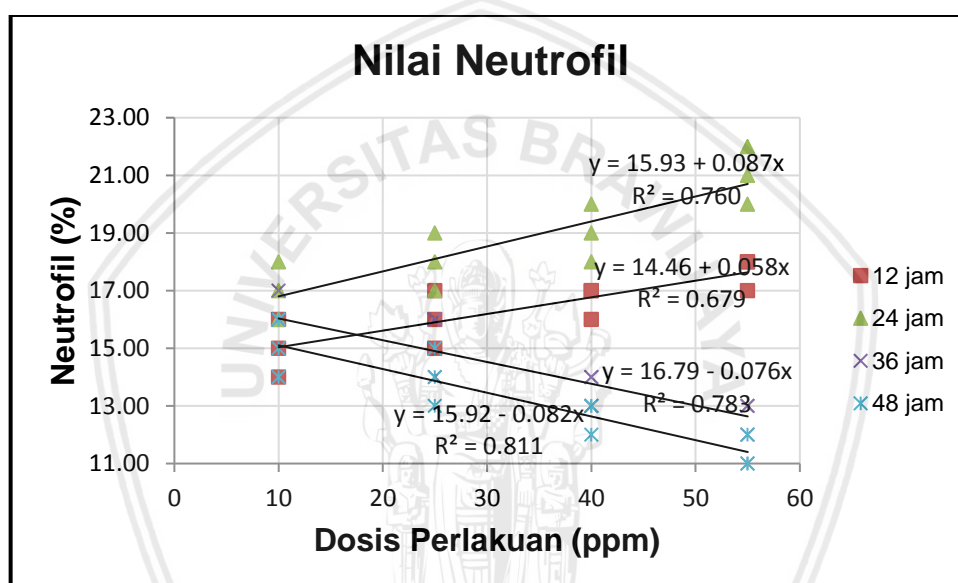
Pengamatan	Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
12 jam (infeksi)	A (10 ppm)	15.00	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	16.00	1.00 ^{ns}	-	-	-	a
	C (40 ppm)	16.67	1.67*	0.67 ^{ns}	-	-	ab
	D (55 ppm)	17.67	2.67**	1.67*	1.00 ^{ns}	-	bc
24 jam (infeksi)	A (10 ppm)	17.00	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	18.00	1.00 ^{ns}	-	-	-	a
	C (40 ppm)	19.00	2.00*	1.00 ^{ns}	-	-	ab
	D (55 ppm)	21.00	4.00**	3.00**	2.00*	-	c
36 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	16.00	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	15.00	1.00 ^{ns}	-	-	-	a
	C (40 ppm)	13.67	2.33**	1.33 ^{ns}	-	-	ab
	D (55 ppm)	12.67	3.33**	2.33**	1.00 ^{ns}	-	bc
48 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	15.00	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	14.00	1.00 ^{ns}	-	-	-	a
	C (40 ppm)	12.67	2.33**	1.33 ^{ns}	-	-	ab
	D (55 ppm)	11.33	3.67**	2.67**	1.33 ^{ns}	-	bc

Keterangan : ns = tidak berbeda nyata; * = berbeda nyata; ** = berbeda sangat nyata

Hasil uji BNT yang mengacu pada Tabel 24 menunjukkan bahwa penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* dan pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dapat mempengaruhi produksi neutrofil ikan nila (*O. niloticus*). Pada pengamatan 12 jam memperoleh hasil perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B, namun berbeda nyata terhadap perlakuan C dan berbeda sangat nyata terhadap perlakuan D. Sedangkan perlakuan B berbeda nyata dengan perlakuan C, tetapi berbeda sangat nyata terhadap perlakuan D. Untuk perlakuan C berbeda nyata dengan perlakuan D. Pada pengamatan 24 jam memperoleh hasil perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B, namun berbeda nyata terhadap perlakuan C dan berbeda sangat nyata terhadap perlakuan D. Sedangkan perlakuan B berbeda nyata dengan perlakuan C, tetapi berbeda sangat nyata terhadap perlakuan D. Untuk perlakuan C berbeda sangat nyata dengan perlakuan D. Pada pengamatan 36 dan 48 jam memperoleh hasil

yang sama seperti pengamatan 12 jam. Perlakuan terbaik pada pengamatan adalah perlakuan D diikuti dengan perlakuan C, B, dan A.

Selanjutnya untuk mengetahui bentuk hubungan antara perlakuan dengan parameter yang diuji, maka perhitungan dilanjutkan dengan uji polinomial ortogonal. Perhitungan uji polinomial ortogonal nilai neutrofil selama pengamatan dapat dilihat pada Lampiran 17. Sedangkan grafik regresi nilai neutrofil selama pengamatan tersebut disajikan pada Gambar 10.



Gambar 10. Grafik regresi neutrofil ikan nila (*O. niloticus*) selama pengamatan.

Data hasil yang disajikan pada Gambar 10 menunjukkan grafik linier antara perlakuan dan parameter yang diuji. Hasil persamaan yang diperoleh pada pengamatan 12 jam ialah $y = 14,46 + 0,058x$ dan $R^2 = 0,679$. Hal ini berarti bahwa penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* berpengaruh terhadap jumlah neutrofil ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 67%, sedangkan 33% pengaruh dari faktor lain. Sedangkan hasil persamaan pada pengamatan 24 jam ialah $y = 15,93 + 0,087x$ dan $R^2 = 0,760$ yang berarti bahwa penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* berpengaruh terhadap jumlah neutrofil ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 76%, sedangkan 24% pengaruh dari faktor lain. Kemudian hasil persamaan pada pengamatan 36 jam ialah $y = 16,79 - 0,076x$ dan $R^2 = 0,783$. Hal ini berarti

bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) berpengaruh terhadap jumlah neutrofil ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 78%, sedangkan 22% pengaruh dari faktor lain. Hasil persamaan pada pengamatan 48 jam ialah $y = 15,92 - 0,082x$ dan $R^2 = 0,811$ yang berarti bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) berpengaruh terhadap jumlah neutrofil ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 81%, sedangkan 19% pengaruh dari faktor lain.

Berdasarkan hasil diatas dapat disimpulkan bahwa jumlah neutrofil mengalami peningkatan pada pengamatan 24 jam. Hal ini disebabkan pada pengamatan tersebut, bakteri *P. aeruginosa* mulai menginfeksi ikan nila (*O. niloticus*) sehingga mempengaruhi peningkatan produksi neutrofil. Menurut Rustikawati (2012), peningkatan jumlah neutrofil merupakan akibat dari mekanisme kekebalan tubuh yang bekerja sebagai respon adanya infeksi dalam tubuh. Peningkatan tersebut mengindikasikan adanya peningkatan kegiatan pengumpulan makrofag di tempat terjadinya infeksi, sehingga makrofag akan lebih mudah untuk menghancurkan partikel asing. Neutrofil akan keluar dari pembuluh darah pada saat terjadinya infeksi disebabkan oleh adanya pengaruh rangsangan kimiawi eksternal atau kemotaksis untuk menghancurkan benda-benda asing tersebut. Namun, terjadi penurunan produksi neutrofil pada pengamatan 48 jam dengan kisaran 11,33% hingga 15,00% karena ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) telah bereaksi pada bakteri *P. aeruginosa*. Penurunan jumlah neutrofil mengindikasikan bahwa ikan yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa* sedang mengalami proses penyembuhan. Perlakuan terendah adalah perlakuan D dengan dosis 55 ppm dikarenakan jumlah neutrofil sudah mencapai batas normal atau mendekati kontrol positif. Sedangkan perlakuan tertinggi ialah perlakuan A dengan dosis 10 ppm karena neutrofil berfungsi untuk menghancurkan benda asing yang masuk. Hal ini sesuai dengan pendapat Tizard (1988), bahwa fungsi utama neutrofil yaitu penghancuran bahan asing

melalui proses fagositosis yaitu kemotaksis dimana sel akan bermigrasi menuju partikel, pelekatan partikel pada sel, penelanan partikel oleh sel, dan penghancuran partikel oleh enzim lisosim di dalam fagolisosom. Pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) membuktikan dapat menurunkan jumlah neutrofil yang berlebihan dan menghambat perkembangan bakteri *P. aeruginosa*.

4.2.4 Kadar Hematokrit

Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh kadar dan dokumentasi pengukuran hematokrit ikan nila (*O. niloticus*) yang dilampirkan pada Lampiran 18 serta Lampiran 23. Pengamatan ini dilakukan sebanyak 4 kali setiap 12 jam sekali yakni pada saat 12 jam, 24 jam, 36 jam, dan 48 jam setelah penginfeksi. Hasil rata-rata hematokrit ikan nila (*O. niloticus*) yang diperoleh selama pengamatan dapat dilihat pada Tabel 25.

Tabel 25. Rataan Hematokrit (%) Ikan Nila (*O. niloticus*) selama Pengamatan

Pengamatan	Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± STDV
		1	2	3		
12 jam (infeksi)	A (10 ppm)	26.00	24.00	26.00	76.00	25.33 ± 1.1547
	B (25 ppm)	25.00	23.00	25.00	73.00	24.33 ± 1.1547
	C (40 ppm)	24.00	21.00	23.00	68.00	22.67 ± 1.5275
	D (55 ppm)	22.00	20.00	22.00	64.00	21.33 ± 1.1547
24 jam (infeksi)	A (10 ppm)	25.00	24.00	24.00	73.00	24.33 ± 0.5774
	B (25 ppm)	24.00	22.00	23.00	69.00	23.00 ± 1.0000
	C (40 ppm)	23.00	20.00	22.00	65.00	21.67 ± 1.5275
	D (55 ppm)	21.00	20.00	21.00	62.00	20.67 ± 0.5774
36 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	30.00	29.00	29.00	88.00	29.33 ± 0.5774
	B (25 ppm)	31.00	32.00	30.00	93.00	31.00 ± 1.0000
	C (40 ppm)	32.00	33.00	32.00	97.00	32.33 ± 0.5774
	D (55 ppm)	32.00	33.00	34.00	99.00	33.00 ± 1.0000
48 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	31.00	30.00	31.00	92.00	30.67 ± 0.5774
	B (25 ppm)	32.00	33.00	32.00	97.00	32.33 ± 0.5774
	C (40 ppm)	33.00	34.00	33.00	100.00	33.33 ± 0.5774
	D (55 ppm)	35.00	36.00	34.00	105.00	35.00 ± 1.0000

Nilai rata-rata hematokrit ikan nila (*O. niloticus*) yang mengacu pada Tabel 25 memperoleh hasil yang beragam. Hasil tertinggi ditunjukkan pada perlakuan D dengan dosis 55 ppm pengamatan 48 jam. Hasil tersebut lebih besar dibandingkan perlakuan lainnya. Untuk mengetahui pengaruh penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* dan pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap hematokrit ikan nila (*O. niloticus*) selama pengamatan, maka dilakukan uji sidik ragam. Perhitungan analisis sidik ragam nilai hematokrit selama pengamatan dapat dilihat pada Lampiran 18. Sedangkan hasil analisis sidik ragam nilai hematokrit selama pengamatan tersebut disajikan pada Tabel 26.

Tabel 26. Analisis Sidik Ragam Jumlah Hematokrit Ikan Nila (*O. niloticus*) selama Pengamatan

Perlakuan	Fhit				F 5%	F 1%
	12 jam	24 jam	36 jam	48 jam		
A (10 ppm)						
B (25 ppm)						
C (40 ppm)	5.95*	7.64**	11.79**	19.78**	4.07	7.59
D (55 ppm)						

Keterangan : * = berbeda nyata; ** = berbeda sangat nyata

Analisis sidik ragam pada Tabel 26 menunjukkan nilai F hitung yang bermacam. Jika nilainya lebih besar daripada F5% dan lebih kecil daripada F1%, maka termasuk kedalam kategori berbeda nyata. Sedangkan apabila nilai F hitung lebih besar daripada F5% dan F1%, maka termasuk kedalam kategori berbeda sangat nyata. Pada pengamatan 12 jam memperoleh hasil berbeda nyata. Sedangkan pada pengamatan 24, 36, dan 48 jam memperoleh hasil berbeda sangat nyata. Hal ini dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai berpengaruh sangat nyata terhadap hematokrit ikan nila yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, maka perhitungan dilanjutkan dengan uji BNT. Perhitungan uji BNT nilai hematokrit selama pengamatan dilampirkan pada Lampiran 18. Sedangkan hasil

uji BNT nilai hematokrit selama pengamatan tersebut dapat dilihat pada Tabel 27.

Tabel 27. Uji BNT Nilai Hematokrit Ikan Nila (*O. niloticus*) selama Pengamatan

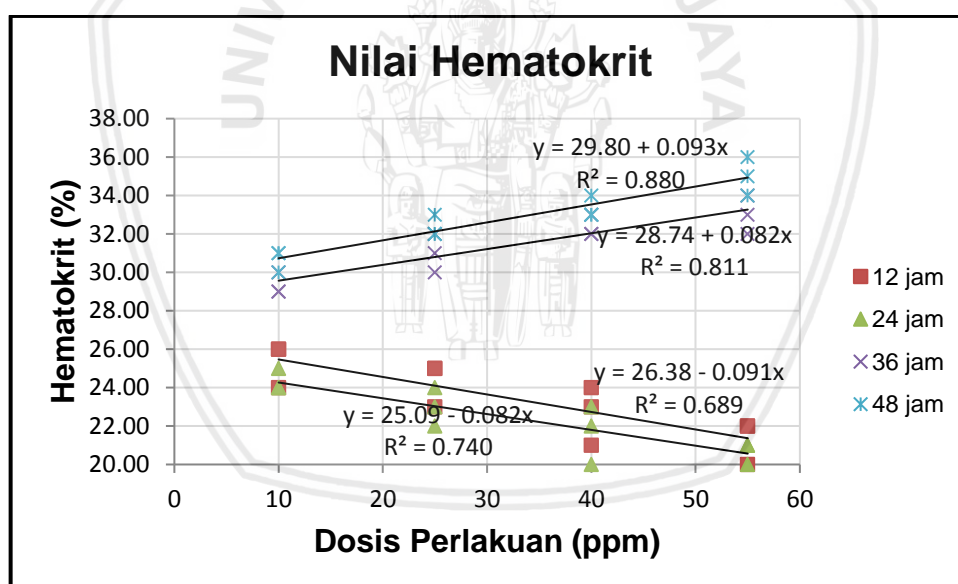
Pengamatan	Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
12 jam (infeksi)	A (10 ppm)	25.33	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	24.33	1.00 ^{ns}	-	-	-	a
	C (40 ppm)	22.67	2.67*	1.67 ^{ns}	-	-	ab
	D (55 ppm)	21.33	4.00**	3.00*	1.33 ^{ns}	-	bc
24 jam (infeksi)	A (10 ppm)	24.33	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	23.00	1.33 ^{ns}	-	-	-	a
	C (40 ppm)	21.67	2.67*	1.33 ^{ns}	-	-	ab
	D (55 ppm)	20.67	3.67**	2.33*	1.00 ^{ns}	-	b
36 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	29.33	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	31.00	1.67*	-	-	-	c
	C (40 ppm)	32.33	3.00**	1.33 ^{ns}	-	-	c
	D (55 ppm)	33.00	3.67**	2.00*	0.67 ^{ns}	-	cd
48 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	30.67	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	32.33	1.67*	-	-	-	b
	C (40 ppm)	33.33	2.67**	1.00 ^{ns}	-	-	bc
	D (55 ppm)	35.00	4.33**	2.67**	1.67*	-	d

Keterangan : ns = tidak berbeda nyata; * = berbeda nyata; ** = berbeda sangat nyata

Hasil uji BNT yang mengacu pada Tabel 27 menunjukkan bahwa penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* dan pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dapat mempengaruhi kadar hematokrit ikan nila (*O. niloticus*). Pada pengamatan 12 jam memperoleh hasil perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B, namun berbeda nyata terhadap perlakuan C dan berbeda sangat nyata terhadap perlakuan D. Sedangkan perlakuan B berbeda nyata dengan perlakuan C, tetapi berbeda sangat nyata terhadap perlakuan D. Untuk perlakuan C berbeda nyata dengan perlakuan D. Sama halnya dengan pengamatan 24 jam juga memperoleh hasil seperti pengamatan 12 jam. Pada pengamatan 36 jam memperoleh hasil perlakuan A berbeda sangat nyata dengan perlakuan B, C, dan D. Sedangkan perlakuan B berbeda nyata dengan perlakuan C, tetapi berbeda sangat nyata terhadap perlakuan D. Untuk

perlakuan C berbeda nyata dengan perlakuan D. Pada pengamatan 48 jam memperoleh perlakuan A berbeda sangat nyata dengan perlakuan B, C, dan D. Sedangkan perlakuan B berbeda nyata dengan perlakuan C, tetapi berbeda sangat nyata terhadap perlakuan D. Untuk perlakuan C berbeda sangat nyata dengan perlakuan D. Perlakuan terbaik pada pengamatan adalah perlakuan D diikuti dengan perlakuan C, B, dan A.

Selanjutnya untuk mengetahui bentuk hubungan antara perlakuan dengan parameter yang diuji, maka perhitungan dilanjutkan dengan uji polinomial ortogonal. Perhitungan uji polinomial ortogonal nilai hematokrit selama pengamatan dapat dilihat pada Lampiran 18. Sedangkan grafik regresi nilai hematokrit selama pengamatan tersebut disajikan pada Gambar 11.



Gambar 11. Grafik regresi hematokrit ikan nila (*O. niloticus*) selama pengamatan.

Data hasil yang disajikan pada Gambar 11 menunjukkan grafik linier antara perlakuan dan parameter yang diuji. Hasil persamaan yang diperoleh pada pengamatan 12 jam ialah $y = 26,38 - 0,091x$ dan $R^2 = 0,689$. Hal ini berarti bahwa penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* berpengaruh terhadap kadar hematokrit ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 68%, sedangkan 32% pengaruh dari

faktor lain. Sedangkan hasil persamaan pada pengamatan 24 jam ialah $y = 25,09 - 0,082x$ dan $R^2 = 0,740$ yang berarti bahwa penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* berpengaruh terhadap kadar hematokrit ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 74%, sedangkan 26% pengaruh dari faktor lain. Kemudian hasil persamaan pada pengamatan 36 jam ialah $y = 28,74 + 0,082x$ dan $R^2 = 0,811$. Hal ini berarti bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) berpengaruh terhadap kadar hematokrit ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 81%, sedangkan 19% pengaruh dari faktor lain. Hasil persamaan pada pengamatan 48 jam ialah $y = 29,80 + 0,093x$ dan $R^2 = 0,880$ yang berarti bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) berpengaruh terhadap kadar hematokrit ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 88%, sedangkan 12% pengaruh dari faktor lain.

Berdasarkan hasil di atas dapat disimpulkan bahwa kadar hematokrit mengalami penurunan pada pengamatan 24 jam. Hal ini disebabkan pada pengamatan tersebut, bakteri *P. aeruginosa* mulai menginfeksi ikan nila (*O. niloticus*) sehingga mempengaruhi penurunan kadar hematokrit. Menurut Hedrick, Gilad, Yun, Spangerberg, Marty, Nordhausen, Kebus, Bercovier dan Eldar (2000), berkurangnya persentase kadar hematokrit disebabkan oleh banyaknya infeksi. Penurunan kadar ini merupakan respon dari ikan terhadap bakteri. Penurunan kadar hematokrit diiringi dengan penurunan sel-sel darah merah (eritrosit). Namun, terjadi peningkatan kadar hematokrit pada pengamatan 48 jam dengan kisaran 30,67% hingga 35,00% karena ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) telah bereaksi pada bakteri *P. aeruginosa*. Perlakuan tertinggi adalah perlakuan D dengan dosis 55 ppm dikarenakan kadar hematokrit sudah mencapai batas normal atau mendekati kontrol positif. Sedangkan perlakuan terendah ialah perlakuan A dengan dosis 10 ppm karena terjadi kerusakan sel darah merah akibat infeksi bakteri sehingga diikuti dengan penurunan kadar hematokrit. Hal ini sesuai dengan pendapat Riauaty dan Syawal (2016), bahwa

selain adanya infeksi bakteri pada ikan, stres dapat mengganggu sistem imunitas yang berdampak negatif pada pertumbuhan ikan, berpengaruh pada komposisi darah termasuk jumlah eritrosit dan juga terhadap kadar hematokrit. Apabila kondisi ikan menurun dan kualitas pakan yang rendah, maka ikan akan mengalami stres sehingga menurunkan kemampuannya untuk mempertahankan diri dari serangan penyakit. Pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) membuktikan dapat meningkatkan kadar hematokrit dan menghambat perkembangan bakteri *P. aeruginosa*.

4.2.5 Kadar Hemoglobin

Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh kadar dan dokumentasi pengukuran hemoglobin ikan nila (*O. niloticus*) yang dilampirkan pada Lampiran 19 serta Lampiran 23. Pengamatan ini dilakukan sebanyak 4 kali setiap 12 jam sekali yakni pada saat 12 jam, 24 jam, 36 jam, dan 48 jam setelah penginfeksi. Hasil rata-rata hemoglobin ikan nila (*O. niloticus*) yang diperoleh selama pengamatan dapat dilihat pada Tabel 28.

Tabel 28. Rataan Hemoglobin (G%) Ikan Nila (*O. niloticus*) selama Pengamatan

Pengamatan	Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata \pm STDV
		1	2	3		
12 jam (infeksi)	A (10 ppm)	4.80	4.70	4.90	14.40	4.80 \pm 0.1000
	B (25 ppm)	4.70	4.60	4.80	14.10	4.70 \pm 0.1000
	C (40 ppm)	4.60	4.40	4.60	13.60	4.53 \pm 0.1155
	D (55 ppm)	4.50	4.30	4.30	13.10	4.37 \pm 0.1155
24 jam (infeksi)	A (10 ppm)	4.70	4.60	4.80	14.10	4.70 \pm 0.1000
	B (25 ppm)	4.60	4.50	4.70	13.80	4.60 \pm 0.1000
	C (40 ppm)	4.50	4.40	4.50	13.40	4.47 \pm 0.0577
	D (55 ppm)	4.40	4.20	4.30	12.90	4.30 \pm 0.1000
36 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	5.30	5.50	5.50	16.30	5.43 \pm 0.1155
	B (25 ppm)	5.40	5.80	5.70	16.90	5.63 \pm 0.2082
	C (40 ppm)	5.60	5.90	6.20	17.70	5.90 \pm 0.3000
	D (55 ppm)	6.40	6.30	6.50	19.20	6.40 \pm 0.1000
48 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	5.90	5.70	5.80	17.40	5.80 \pm 0.1000
	B (25 ppm)	6.30	6.10	6.00	18.40	6.13 \pm 0.1528
	C (40 ppm)	6.40	6.50	6.30	19.20	6.40 \pm 0.1000
	D (55 ppm)	6.60	6.70	6.80	20.10	6.70 \pm 0.1000

Nilai rata-rata hemoglobin ikan nila (*O. niloticus*) yang mengacu pada Tabel 28 memperoleh hasil yang beragam. Hasil tertinggi ditunjukkan pada perlakuan D dengan dosis 55 ppm pengamatan 48 jam. Hasil tersebut lebih besar dibandingkan perlakuan lainnya. Untuk mengetahui pengaruh penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* dan pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap hemoglobin ikan nila (*O. niloticus*) selama pengamatan, maka dilakukan uji sidik ragam. Perhitungan analisis sidik ragam nilai hemoglobin selama pengamatan dapat dilihat pada Lampiran 19. Sedangkan hasil analisis sidik ragam nilai hemoglobin selama pengamatan tersebut disajikan pada Tabel 29.

Tabel 29. Analisis Sidik Ragam Jumlah Hemoglobin Ikan Nila (*O. niloticus*) selama Pengamatan

Perlakuan	Fhit				F 5%	F 1%
	12 jam	24 jam	36 jam	48 jam		
A (10 ppm)						
B (25 ppm)	9.33**	10.80**	13.41**	33.06**	4.07	7.59
C (40 ppm)						
D (55 ppm)						

Keterangan : ** = berbeda sangat nyata

Analisis sidik ragam pada Tabel 29 menunjukkan nilai F hitung yang bermacam. Jika nilainya lebih besar daripada F5% dan lebih kecil daripada F1%, maka termasuk kedalam kategori berbeda nyata. Sedangkan apabila nilai F hitung lebih besar daripada F5% dan F1%, maka termasuk kedalam kategori berbeda sangat nyata. Pada pengamatan 12, 24, 36, dan 48 jam memperoleh hasil berbeda sangat nyata. Hal ini dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai berpengaruh sangat nyata terhadap hemoglobin ikan nila yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, maka perhitungan dilanjutkan dengan uji BNT. Perhitungan uji BNT nilai hemoglobin selama pengamatan dilampirkan pada Lampiran 19. Sedangkan

hasil uji BNT nilai hemoglobin selama pengamatan tersebut dapat dilihat pada Tabel 30.

Tabel 30. Uji BNT Nilai Hemoglobin Ikan Nila (*O. niloticus*) selama Pengamatan

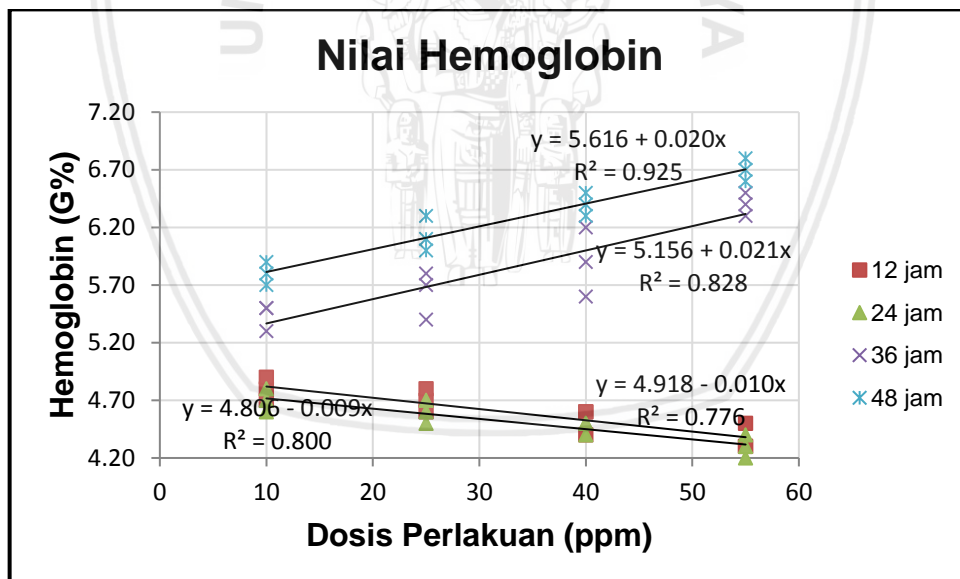
Pengamatan	Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
12 jam (infeksi)	A (10 ppm)	4.80	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	4.70	0.10 ^{ns}	-	-	-	a
	C (40 ppm)	4.53	0.27*	0.17 ^{ns}	-	-	ab
	D (55 ppm)	4.37	0.43**	0.33**	0.17 ^{ns}	-	bc
24 jam (infeksi)	A (10 ppm)	4.70	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	4.60	0.10 ^{ns}	-	-	-	a
	C (40 ppm)	4.47	0.23*	0.13 ^{ns}	-	-	ab
	D (55 ppm)	4.30	0.40**	0.30**	0.17 ^{ns}	-	bc
36 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	5.43	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	5.63	0.20 ^{ns}	-	-	-	a
	C (40 ppm)	5.90	0.47*	0.27 ^{ns}	-	-	ab
	D (55 ppm)	6.40	0.97**	0.77**	0.50*	-	c
48 jam (pengobatan)	A (10 ppm)	5.80	-	-	-	-	a
	B (25 ppm)	6.13	0.33**	-	-	-	b
	C (40 ppm)	6.40	0.60**	0.27*	-	-	c
	D (55 ppm)	6.70	0.90**	0.57**	0.30*	-	d

Keterangan : ns = tidak berbeda nyata; * = berbeda nyata; ** = berbeda sangat nyata

Hasil uji BNT yang mengacu pada Tabel 30 menunjukkan bahwa penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* dan pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dapat mempengaruhi kadar hemoglobin ikan nila (*O. niloticus*). Pada pengamatan 12 jam memperoleh hasil perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B, namun berbeda nyata terhadap perlakuan C dan berbeda sangat nyata terhadap perlakuan D. Sedangkan perlakuan B berbeda nyata dengan perlakuan C, tetapi berbeda sangat nyata terhadap perlakuan D. Untuk perlakuan C berbeda nyata dengan perlakuan D. Sama halnya dengan pengamatan 24 jam juga memperoleh hasil seperti pengamatan 12 jam. Pada pengamatan 36 jam memperoleh hasil perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B, namun berbeda nyata terhadap perlakuan C dan berbeda sangat nyata terhadap perlakuan D. Sedangkan perlakuan B berbeda nyata dengan

perlakuan C, tetapi berbeda sangat nyata terhadap perlakuan D. Untuk perlakuan C berbeda sangat nyata dengan perlakuan D. Pada pengamatan 48 jam memperoleh hasil perlakuan A berbeda sangat nyata dengan perlakuan B, C, dan D. Sedangkan perlakuan B juga berbeda sangat nyata dengan perlakuan C dan D. Sama halnya dengan perlakuan C yang berbeda sangat nyata dengan perlakuan D. Perlakuan terbaik pada pengamatan adalah perlakuan D diikuti dengan perlakuan C, B, dan A.

Selanjutnya untuk mengetahui bentuk hubungan antara perlakuan dengan parameter yang diuji, maka perhitungan dilanjutkan dengan uji polinomial ortogonal. Perhitungan uji polinomial ortogonal nilai hemoglobin selama pengamatan dapat dilihat pada Lampiran 19. Sedangkan grafik regresi nilai hemoglobin selama pengamatan tersebut disajikan pada Gambar 12.



Gambar 12. Grafik regresi hemoglobin ikan nila (*O. niloticus*) selama pengamatan.

Data hasil yang disajikan pada Gambar 12 menunjukkan grafik linier antara perlakuan dan parameter yang diuji. Hasil persamaan yang diperoleh pada pengamatan 12 jam ialah $y = 4,918 - 0,010x$ dan $R^2 = 0,776$. Hal ini berarti bahwa penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* berpengaruh terhadap kadar

hemoglobin ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 77%, sedangkan 23% pengaruh dari faktor lain. Sedangkan hasil persamaan pada pengamatan 24 jam ialah $y = 4,806 - 0,009x$ dan $R^2 = 0,800$ yang berarti bahwa penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* berpengaruh terhadap kadar hemoglobin ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 80%, sedangkan 20% pengaruh dari faktor lain. Kemudian hasil persamaan pada pengamatan 36 jam ialah $y = 5,156 + 0,021x$ dan $R^2 = 0,828$. Hal ini berarti bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) berpengaruh terhadap kadar hemoglobin ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 82%, sedangkan 18% pengaruh dari faktor lain. Hasil persamaan pada pengamatan 48 jam ialah $y = 5,616 + 0,020x$ dan $R^2 = 0,925$ yang berarti bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) berpengaruh terhadap kadar hemoglobin ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 92%, sedangkan 8% pengaruh dari faktor lain.

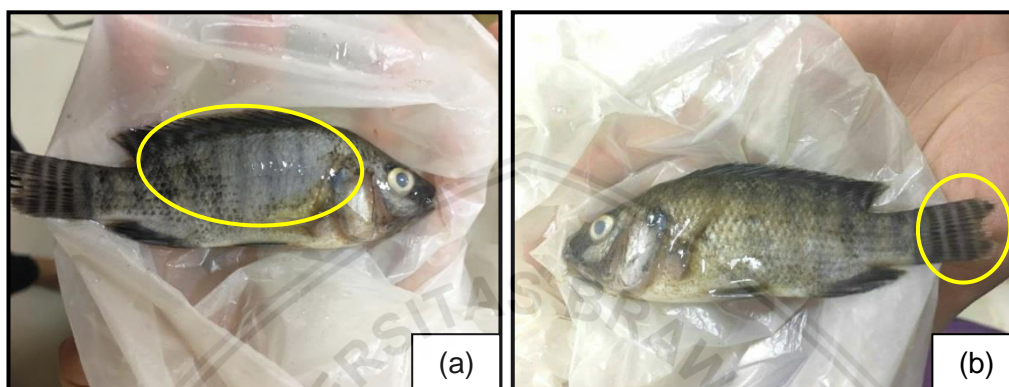
Berdasarkan hasil diatas dapat disimpulkan bahwa kadar hemoglobin mengalami penurunan pada pengamatan 24 jam. Hal ini disebabkan pada pengamatan tersebut, bakteri *P. aeruginosa* mulai menginfeksi ikan nila (*O. niloticus*) sehingga mempengaruhi penurunan kadar hemoglobin. Menurut Dellman dan Brown (1989), kadar hemoglobin dibawah kisaran normal mengindikasikan rendahnya kandungan protein pakan, defisiensi vitamin dan kualitas air buruk atau ikan mendapat infeksi. Sehingga dapat diduga bahwa rendahnya nilai hemoglobin akibat buruknya kualitas air, dalam hal ini yaitu salinitas. Buruknya kualitas air dikarenakan ikan langsung mengalami perubahan lingkungan (salinitas) tanpa proses adaptasi terlebih dahulu. Namun, terjadi peningkatan kadar hemoglobin pada pengamatan 48 jam dengan kisaran 5,80 G% hingga 6,70 G% karena ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) telah bereaksi pada bakteri *P. aeruginosa*. Perlakuan tertinggi adalah perlakuan D dengan dosis 55 ppm dikarenakan kadar hemoglobin sudah mencapai batas normal atau mendekati kontrol positif. Sedangkan perlakuan terendah ialah

perlakuan A dengan dosis 10 ppm karena hemoglobin adalah kandungan pigmen sel darah merah yang mengikat oksigen untuk menghasilkan energi. Hal ini sesuai dengan pendapat Fauzan, Rosmaidar, Sugito, Zuhrawati, Muttaqien dan Azhar (2017), hemoglobin menentukan tingkat ketahanan tubuh pada ikan dikarenakan memiliki hubungan yang sangat erat dengan adanya daya ikat oksigen oleh darah. Kemampuan mengikat oksigen dalam darah tergantung pada jumlah hemoglobin yang terdapat dalam sel darah merah. Rendahnya kadar hemoglobin menyebabkan laju metabolisme menurun dan energi yang dihasilkan menjadi rendah. Hemoglobin berkaitan erat dengan eritrosit karena merupakan pigmen sel darah merah tersebut. Semakin sedikit kadar hemoglobin, maka ikan tersebut diduga mengalami anemia. Pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) membuktikan dapat meningkatkan kadar hemoglobin dan menghambat perkembangan bakteri *P. aeruginosa*.

4.3 Gejala Klinis Ikan Nila (*O. niloticus*)

Berdasarkan hasil pengamatan gejala klinis pada ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi oleh bakteri *P. aeruginosa* terlihat tanda-tanda saat sebelum diinfeksi yakni warna tubuh yang terang dan bersih, anggota tubuh lengkap, dan berenang normal. Namun, setelah diinfeksi menunjukkan perubahan yaitu warna tubuh menjadi kusam, sirip caudal geripis, sebagian sisik terkelupas, mata terlepas, berenang di permukaan air serta megap-megap. Menurut Manurung dan Susantie (2017), bakteri *Pseudomonas* merupakan patogen oportunistik yang menyerang ikan air tawar dan digolongkan ke dalam kelompok bakteri perusak sirip (*bacterial fin rot*). Gejala ikan yang terinfeksi bakteri ini adalah terdapat benjolan merah pada pangkal sirip dada, perut membengkak, tubuh penuh borok, pendarahan pada organ internal, sekitar mulut, opercula, dan terjadi nekrosis pada jaringan limpa dan ginjal. Hal ini sesuai dengan pendapat

Hardi, *et al.* (2014), gejala lain yang ditimbulkan oleh ikan nila (*O. niloticus*) yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa* ialah warna tubuh menjadi pucat, penonjolan bola mata hingga keluar (eksoftalmia), sisik terkelupas, sirip geripis, ditemukan adanya luka pada daerah terinfeksi, dan berenang lemah. Gejala klinis yang dialami ikan nila (*O. niloticus*) disajikan pada Gambar 13.



Gambar 13. Gejala klinis ikan nila (*O. niloticus*) yang telah terinfeksi, Sisik yang terkelupas (a), Sirip yang geripis (b).

4.4 Tingkat Kelulushidupan (*Survival Rate*)

Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh data tingkat kelulushidupan atau *survival rate* (SR) yang dilampirkan pada Lampiran 20. Pengamatan tersebut memperoleh hasil rata-rata SR ikan nila (*O. niloticus*) yang dapat dilihat pada Tabel 31.

Tabel 31. Rataan *Survival Rate* (%) Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata \pm STDV
	1	2	3		
A (10 ppm)	60.00	70.00	60.00	190.00	63.33 \pm 5.7735
B (25 ppm)	70.00	80.00	60.00	210.00	70.00 \pm 10.0000
C (40 ppm)	80.00	90.00	80.00	250.00	83.33 \pm 5.7735
D (55 ppm)	90.00	90.00	80.00	260.00	86.67 \pm 5.7735
Total	300.00	330.00	280.00	910.00	
Rerata	75.00	82.50	70.00		

Nilai rata-rata SR ikan nila (*O. niloticus*) yang mengacu pada Tabel 31 memperoleh hasil yang beragam. Hasil tertinggi ditunjukkan pada perlakuan D dengan dosis 55 ppm. Hasil tersebut lebih besar dibandingkan perlakuan lainnya.

Untuk mengetahui pengaruh penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* dan pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap SR ikan nila (*O. niloticus*) selama pengamatan, maka dilakukan uji sidik ragam. Perhitungan analisis sidik ragam nilai SR selama pengamatan dapat dilihat pada Lampiran 20. Sedangkan hasil analisis sidik ragam nilai SR selama pengamatan tersebut disajikan pada Tabel 32.

Tabel 32. Analisis Sidik Ragam *Survival Rate* Ikan Nila (*O. niloticus*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F _{hit}	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1091.67	363.89	7.28*	4.07	7.59
Acak	8	400.00	50.00			
Total	11	1491.67				

Keterangan : * = berbeda nyata

Analisis sidik ragam pada Tabel 32 menunjukkan hasil F hitung sebesar 7,28. Nilai F hitung memiliki hasil yang lebih besar daripada F hitung 5% dan lebih kecil daripada F hitung 1%, sehingga dapat disimpulkan bahwa nilai SR berbeda nyata. Hal ini dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai berpengaruh nyata terhadap ikan nila yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, maka perhitungan dilanjutkan dengan uji BNT. Perhitungan uji BNT nilai SR selama pengamatan dilampirkan pada Lampiran 20. Sedangkan hasil uji BNT nilai SR pengamatan tersebut dapat dilihat pada Tabel 33.

Tabel 33. Uji BNT Nilai *Survival Rate* Ikan Nila (*O. niloticus*)

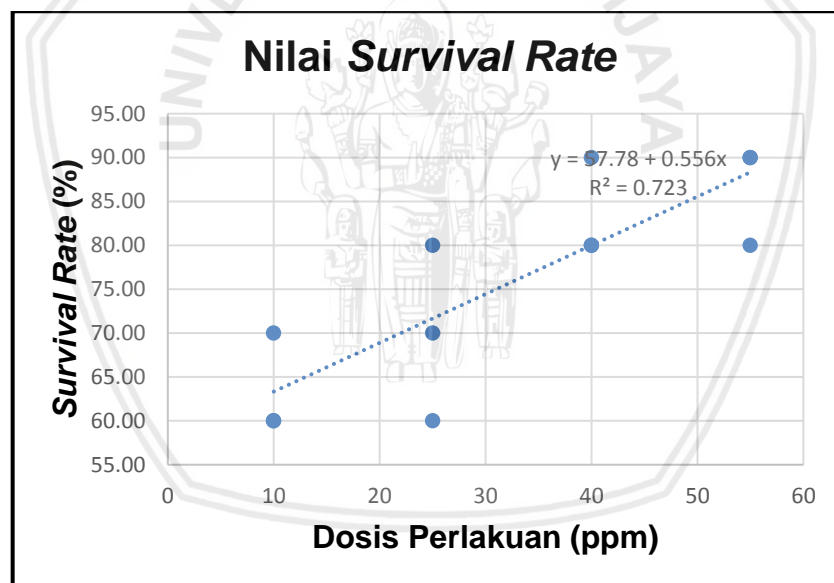
Perlakuan	Rerata	A 63.33	B 70.00	C 83.33	D 86.67	Notasi
A	63.33	-	-	-	-	a
B	70.00	6.67 ^{ns}	-	-	-	a
C	83.33	20.00**	13.33*	-	-	b
D	86.67	23.33**	16.67*	3.33 ^{ns}	-	bc

Keterangan : ns = tidak berbeda nyata; * = berbeda nyata; ** = berbeda sangat nyata

Hasil uji BNT yang mengacu pada Tabel 33 menunjukkan bahwa penginfeksi bakteri *P. aeruginosa* dan pemberian ekstrak kasar kulit buah

petai (*P. speciosa*) dapat mempengaruhi SR ikan nila (*O. niloticus*). Pengamatan SR memperoleh hasil perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B, namun berbeda sangat nyata terhadap perlakuan C dan D. Sedangkan perlakuan B berbeda sangat nyata dengan perlakuan C dan D. Untuk perlakuan C berbeda nyata dengan perlakuan D. Perlakuan terbaik adalah perlakuan D diikuti dengan perlakuan C, B, dan A.

Selanjutnya untuk mengetahui bentuk hubungan antara perlakuan dengan parameter yang diuji, maka perhitungan dilanjutkan dengan uji polinomial ortogonal. Perhitungan uji polinomial ortogonal nilai SR selama pengamatan dapat dilihat pada Lampiran 20. Sedangkan grafik regresi nilai SR pengamatan tersebut disajikan pada Gambar 14.



Gambar 14. Grafik regresi *survival rate* ikan nila (*O. niloticus*).

Data hasil yang disajikan pada Gambar 14 menunjukkan grafik linier antara perlakuan dan parameter yang diuji. Hasil persamaan yang diperoleh ialah $y = 57,78 + 0,556x$ dan $R^2 = 0,723$. Hal ini berarti bahwa ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) yang diberikan berpengaruh terhadap SR ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 72%, sedangkan 28% pengaruh dari faktor lain.

Berdasarkan hasil diatas dapat disimpulkan bahwa tingkat kelulushidupan (*survival rate*) mengalami kenaikan. Hal ini disebabkan karena ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) telah bereaksi pada bakteri *P. aeruginosa*. Perlakuan tertinggi adalah perlakuan D dengan dosis 55 ppm, sedangkan perlakuan terendah ialah perlakuan A dengan dosis 10 ppm. Menurut Santoso, *et al.* (2013), faktor yang mempengaruhi kelulushidupan ada 2, yaitu faktor biotik dan abiotik. Faktor biotik yang mempengaruhi yaitu kompetitor, parasit, predasi, jamur, kepadatan populasi, kemampuan adaptasi dari hewan dan penanganan manusia. Faktor abiotik yang berpengaruh yaitu sifat fisika dan kimia dari suatu lingkungan perairan. Pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) membuktikan dapat meningkatkan *survival rate* dan menghambat perkembangan bakteri *P. aeruginosa*. Hasil tersebut diuji normalitasnya menggunakan SPSS yang dilampirkan pada Lampiran 21.

4.5 Kualitas Air

Berdasarkan hasil pengamatan kualitas air seperti suhu, oksigen terlarut, dan pH diperoleh data yang dilampirkan pada Lampiran 22. Pengukuran kualitas air dilakukan selama 14 hari pemeliharaan. Kualitas air harus dikontrol untuk menjaga kisaran agar tetap optimal dan ikan yang dibudidayakan tidak mengalami kematian. Kisaran hasil pengamatan kualitas air selama pemeliharaan disajikan pada Tabel 34.

Tabel 34 . Pemeriksaan Kualitas Air

No.	Parameter	Nilai Pengukuran	Referensi
1.	Suhu	25,2-26,8 °C	25-30 °C (Allanson, <i>et al.</i> , 1971)
2.	Oksigen Terlarut (DO)	5,5-8,4 mg/l	>5-7 mg/l (Wedemeyer, 1997)
3.	pH	7,11-8,14	6-8,5 (Anwar, 2012)

4.5.1 Suhu

Nilai suhu yang mengacu pada Tabel 34 memperoleh hasil tertinggi sebesar 26,8 °C, sedangkan nilai suhu terendah sebesar 25,2 °C. Kedua hasil tersebut masih dikategorikan kedalam suhu optimal. Hal ini sesuai dengan pendapat Allanson, Bok dan Wyk (1971), bahwa suhu optimal yang dapat ditoleransi oleh ikan nila (*O. niloticus*) adalah berkisar 25-30 °C. Perbedaan suhu pada tiap wadah dikarenakan letak penempatan wadah tersebut.

4.5.2 Oksigen Terlarut (DO)

Nilai oksigen terlarut yang mengacu pada Tabel 34 memperoleh hasil tertinggi sebesar 8,4 mg/l, sedangkan nilai oksigen terlarut terendah sebesar 5,5 mg/l. Kisaran konsentrasi oksigen yang lebih aman dalam budidaya ikan nila (*O. niloticus*) menurut Wedemeyer (1997), adalah >5-7 mg/l. Apabila kadar oksigen terlarut dibawah 5 mg/l, maka dapat menyebabkan gangguan pada sistem reproduksi, pertumbuhan, serta kematian.

4.5.3 Derajat Keasaman (pH)

Nilai derajat keasaman yang mengacu pada Tabel 34 memperoleh hasil tertinggi sebesar 8,14, sedangkan nilai derajat keasaman terendah sebesar 7,11. Menurut Anwar (2012), kisaran derajat keasaman untuk pertumbuhan optimal ikan nila (*O. niloticus*) adalah antara 6-8,5.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut:

- Perendaman ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) berpengaruh terhadap hematologi ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*. Hal ini dibuktikan dengan pengamatan gambaran parameter darah setiap 12 jam sekali setelah penginfeksian.
- Dosis yang memberikan dampak terbaik dalam penyembuhan ikan adalah 55 ppm (perlakuan D). Hal ini dikarenakan nilai eritrosit, leukosit, diferensial leukosit, hematokrit, serta hemoglobin pada pengamatan 48 jam memiliki nilai yang mendekati batas normal dan kontrol positif (K+).

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, disarankan untuk menggunakan ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) pada dosis 55 ppm (perlakuan D) dalam menanggulangi penyakit yang disebabkan oleh bakteri *P. aeruginosa* pada budidaya ikan nila (*O. niloticus*). Selain itu, perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai penentuan dosis optimal dalam penggunaan ekstrak kasar kulit buah petai dengan *range* yang lebih tinggi pada budidaya ikan nila, sehingga dapat mengurangi resiko kematian massal dan kerugian materi yang tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Affandi, R dan U. M. Tang. 2002. Fisiologi Hewan Air. Universitas Riau Press. Riau. 217 hlm.
- Akbar, F. Z. I. 2018. Effects of bitter bean extract (*Parkia speciosa*) on the histopathological liver onwistar male white rat (*Rattus norvegicus*) which induced by paracetamol. *Hang Tuah Medical Journal*. **15** (2): 219-233.
- Alfian, I. Lukistyowati dan H. Syawal. 2017. Pemberian probiotik *Bacillus* sp. berasal dari udang galah (*Macrobrachium rosenbergii* De Man) dan udang windu (*Penaeus monodon*) terhadap status kesehatan ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Online Mahasiswa*. **4** (1): 1-10.
- Allanson, B. R., A. Bok and N. I. V. Wyk. 1971. The influence of exposure to low temperature on tilapia mossambica Peters (cichlidae) II changes in serum osmolarity, sodium, and chloride ion concentrations. *Journal of Fish Biology*. **3**: 181-185.
- Amri, K dan Khairuman. 2002. Menanggulangi Penyakit pada Ikan Mas dan Koi. Agro Media Pustaka. Jakarta.
- Anggraini, H., Fakhurrazi dan A. Harris. 2017. Uji antibakterial ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus costaricensis*) dan putih (*Hylocereus undatus*) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *JIMVET*. **1** (3): 416-423.
- Anwar, K. 2012. Analysis of genetic gain tilapia fish kunti F5 (*Oreochromis niloticus*) at nursery I-III. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **1** (10): 116-131.
- Ashari, C., R. A. Tumbol dan M. E. F. Kolopita. 2014. Diagnosa penyakit bakterial pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang di budi daya pada jaring tancap di Danau Tondano. *Budidaya Perairan*. **2** (3): 24-30.
- Baratawidjaja, K. G. 2012. Immunologi Dasar. Edisi Kesepuluh. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 517 hlm.
- Cornelis, P. 2008. Pseudomonas Genomics and Molecular Biology. Caister Academic Press. UK. p 15.
- Dellman, H. D and E. M. Brown. 1989. Buku Teks Histologi Veteriner 1. Hartono (Penerjemah). UI Press. Jakarta.
- Dianti, L ., S. B. Prayitno dan R. W. Ariyati. 2013 Ketahanan nonspesifik ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang direndam ekstrak daun jeruju (*Acanthus*

ilicifolius) terhadap infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **2** (4): 63-71.

- Djarajah, A. S. 1995. PAKAN IKAN ALAMI. Kanisius. Yogyakarta. 90 hlm.
- Fauzan, M., Rosmaidar, Sugito, Zuhrawati, Muttaqien dan Azhar. 2017. Pengaruh tingkat paparan timbal (Pb) terhadap profil darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *JIMVET*. **1** (4): 702-708.
- Fitria, L dan M. Sarto. 2014. Profil hematologi tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) galur wistar jantan dan betina umur 4, 6, dan 8 minggu. *Biogenesis Jurnal Ilmiah Biologi*. **2** (2): 94-100.
- Fujaya, Y. 2008. FISILOGI IKAN: Dasar Pengembangan Teknologi Perikanan. PT. Rineka Cipta. Jakarta. hlm 100.
- Gschmeissner, S. 2013. <https://fineartamerica.com/featured/3-pseudomonas-aeruginosa-bacteria-sem-steve-gschmeissner.html>. Diakses pada tanggal 5 Desember 2018.
- Hadie, L. E., R. R. S. P. S. Dewi dan W. Hadie. 2013. Efektivitas strain ikan nila srikandi (*Oreochromis niloticus*) dalam perbenihan skala massal. *Jurnal Iktiologi Indonesia*. **13** (1): 13-23.
- Hanna, Y. 2017. <http://bobo.grid.id/read/08674880/manfaat-petai-di-balik-baunya-yang-menyengat?page=all>. Diakses pada tanggal 16 Oktober 2018.
- Hardi, E. H., C. A. Pebrianto dan G. Saptiani. 2014. Toksisitas produk ekstraseluler dan intraseluler bakteri *Pseudomonas* sp. pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Veteriner*. **15** (3): 312-322.
- Hartika, R., Mustahal dan A. N. Putra. 2014. Gambaran darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan penambahan dosis prebiotik yang berbeda dalam pakan. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **4** (4): 259-267.
- Hedrick, R. P., O. Gilad, S. C. Yun, J. V. Spangerberg, G. D. Marty, R. W. Nordhausen, M. J. Kebus, H. Bercovier and A. Eldar. 2000. A herpes virus associated with mass mortality of juvenile and adult koi, a strain of common carp. American fisheries society. *Journal of Aquatic Animal Health*. **12**: 44-57.
- Julendra, H., Zuprizal dan Supadmo. 2010. Penggunaan tepung cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) sebagai aditif pakan terhadap penampilan produksi ayam pedaging, profil darah, dan pencernaan protein. *Jurnal Buletin Peternakan*. **34** (1): 21-29.

- Kharisma, A. dan A. Manan. 2012. Kelimpahan bakteri *Vibrio* sp. pada air pembesaran udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) sebagai deteksi dini serangan penyakit vibriosis. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **4** (2): 129-134.
- Khoiruddin, M. A. 2014. Pendekatan sosiologi dalam studi islam. *Jurnal Metode Studi Islami*. **25** (2): 395-408.
- Kordi, M. G. H. 2000. Budidaya Ikan Nila. Dahara Prize. Jakarta.
- Maftuch, H. Nursyam dan Sukarni. 2012. Kajian penggunaan ciprofloxacin terhadap hematologi ikan botia (*Botia macracanthus*, Bleeker) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *J.Exp.Life.Sci*. **2** (2): 65-69.
- Manurung, U. N dan D. Susantie. 2017. Identifikasi bakteri patogen pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) di lokasi budidaya ikan air tawar Kabupaten Kepulauan Sangihe. *Budidaya Perairan*. **5** (3): 11-17.
- Monalisa, S. S dan I. Minggawati. 2010. Kualitas air yang mempengaruhi pertumbuhan ikan nila (*Oreochromis* sp.) di kolam beton dan terpal. *Journal of Tropical Fisheries*. **5** (2): 526-530.
- Morena, Y. 2013. Desain eksperimen pengaruh pemanasan terhadap penurunan berat dan kandungan kadar air dalam kernel kelapa sawit menggunakan rancangan acak lengkap (studi kasus: PT. Ciliandra Perkasa). *Jurnal Sains, Teknologi & Industri*. **11** (1): 1-9.
- Moyle, P. B and Jr. J. Cech. 2004. Fishes: An Introduction to Ichthyology. Parentice Hall. USA. 597 p.
- Nursucihta, S., D. M. Putri, H. A. Thai'in dan D. N. Utami. 2013. *Uji Aktivitas Ekstrak Etanolik Biji Petai (Parkia Speciosa Hassk.) sebagai Antianemia dalam Rangka Pengembangan Bahan Alam Indonesia*. Laporan Akhir. Tidak Diterbitkan. Universitas Gadjah Mada: Yogyakarta.
- Nuryati, S., D. Puspitaningtyas dan D. Wahjuningrum. 2007. Potensi ekstrak bawang putih *Allium sativum* untuk menginaktivasi koi herpesvirus (KHV) pada ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **6** (2): 147-154.
- Nuryati, S., P. Giri dan Y. Hadiroseyani. 2008. Efektivitas ekstrak bawang putih *Allium sativum* terhadap ketahanan tubuh ikan mas *Cyprinus carpio* yang diinfeksi koi herpes virus (khv). *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **7** (2): 139-150.

- Pasaribu, W., S. N. J. Longdong dan J. D. Mudeng. 2015. Efektivitas ekstrak daun pacar air (*Impatiens balsamina* L.) untuk meningkatkan respon imun non spesifik ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Budidaya Perairan*. **3** (1): 83-92.
- Payung, C. N dan H. Manoppo. 2015. Peningkatan respon kebal non-spesifik dan pertumbuhan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) melalui pemberian jahe, *Zingiber officinale*. *Jurnal Budidaya Perairan*. **3** (1): 11-18.
- Permatasari, G. A. A. A., I. N. K. Besung dan H. Mahatmi. 2013. Daya hambat perasan daun sirsak terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. *Indonesia Medicus Veterinus*. **2** (2): 162-169.
- Purnama. 2013. *Aktivitas Antibakteri Glukosa terhadap Bakteri Staphylococcus aerus, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis, dan Escherichia coli*. Skripsi. Tidak Diterbitkan. Universitas Muhammadiyah Surakarta: Surakarta.
- Purwaningsih, U., Tauhid, A. M. Lusiastuti, D. Sugiani dan T. Sumiati. 2015. Sediaan vaksin *Mycobacterium fortuitum* isolat lokal yang efektif untuk pencegahan penyakit mycobacteriosis pada ikan gurami, *Osphronemus gouramy*. *Jurnal Riset Akuakultur*. **10** (3): 423-433.
- Purwanti, S. C., Suminto dan A. Sudaryono. 2014. Gambaran profil darah ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diberi pakan dengan kombinasi pakan buatan dan cacing tanah (*Lumbricus rubellus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **3** (2): 53-60.
- Purwitasari, E., P. Artini dan R. Setyaningsih. 2004. Pengaruh media tumbuh terhadap kadar protein *Saccharomyces cerevisiae* dalam pembuatan protein sel tunggal. *Jurnal Bioteknologi*. **1** (2): 37-42.
- Putri, A. M., S. B. Prayitno dan Sarjito. 2015. Perendaman berbagai dosis ekstrak daun bakau (*Rhizophora apiculata*) untuk pengobatan kepiting bakau (*Scylla serrata*) yang diinfeksi bakteri *Vibrio harveyi*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **4** (4): 141-149.
- Putri, A. N. F., H. Syawal dan I. Lukistyowati. 2017. Sensitivitas ekstrak daun *Xylocarpus* sp. *Jurnal Online Mahasiswa*. **4** (2): 1-11.
- Rafdinal, I., Amiruddin, N. Asmilia, Zuraidawati, A. Sayuti, Zuhrawati dan R. Daud. 2016. Perbedaan jumlah leukosit setelah transplantasi kulit secara *autograft* dan *isograft* pada anjing lokal (*Canis lupus Familiaris*). *Jurnal Medika Veterinaria*. **10** (2): 144-146.

- Rahmadian, C. A., Ismail, M. Abrar, Erina, Rastina dan Y. Fahrimal. 2018. Isolasi dan identifikasi bakteri *Pseudomonas* sp. pada ikan asin di tempat pelelangan ikan Labuhanhaji Aceh Selatan. *JIMVET*. **2** (4): 493-502.
- Riauwaty, M dan H. Syawal. 2016. Gambaran darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) di kolam budidaya di Kecamatan Marpoyan Damai Kota Pekanbaru. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **21** (1): 1-6.
- Ridho, M. R., H. Soeprapto dan M. B. Syakirin. 2017. Aplikasi tepung daun turi hasil fermentasi dalam pakan buatan terhadap pertumbuhan benih ikan nila srikandi (*Oreochromis aureus* >< *niloticus*). *PENA Akuatika*. **15** (1): 19-31.
- Ritonga, M., D. Suryanto dan Yunasfi. 2017. Jenis-jenis bakteri potensial patogen yang menginfeksi ikan mas (*Cyprinus carpio*) di kolam patumbak Kabupaten Deli Serdang. *Jurnal Aquacoastmarine*. **15** (1): 1-10.
- Roberts, R. J. 2001. Fish Pathology. Ballier Tindall. London. 108 p.
- Royan, F., S. Rejeki dan A. H. C. Haditomo. 2014. Pengaruh salinitas yang berbeda terhadap profil darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **3** (2): 109-117.
- Rukmana, R. 1997. IKAN NILA: Budi Daya dan Aspek Agribisnis. Kanisius. Yogyakarta. hlm 20.
- Rustikawati, I. 2012. Efektivitas ekstrak *Sargassum* sp. terhadap diferensiasi leukosit ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi *Streptococcus iniae*. *Jurnal Akuatika*. **3** (2): 125-134.
- Santoso, B. B., F. Basuki dan S. Hastuti. 2013. Analisa ketahanan tubuh benih hibrida nila larasati (*Oreochromis niloticus*) generasi 5 (F5) yang diinfeksi bakteri *Streptococcus agalactiae* dengan konsentrasi berbeda. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **2** (3): 64-75.
- Saragih, P. S., H. Syawal dan M. Rauwaty. 2016. Total of erythrocytes, haematocrit, and haemoglobin changes of *Pangasius hypophthalmus* that were immersed in curcumin extract and that were infected by *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Online Mahasiswa*. **3** (2): 1-14.
- Sarkiah, A. Rimalia dan R. Iskandar. 2016. Kesehatan ikan nila gift (*Oreochromis niloticus*) pada usaha keramba di Desa Masta, Tapin, Kalimantan Selatan. *ZIRAA'AH*. **41** (3): 341-345.

- Siantara, A. P., L. Limantara, L. Dewi dan E. Widawati. 2017. Analisis kelayakan budidaya ikan nila dengan sistem akuaponik dan pakan buatan di Dusun Ponggang, Jawa Barat. *Jurnal Metris*. **18**: 29-36.
- Simanjuntak, M., R. Siregar dan C. Wanna. 2017. Studi pengaruh beberapa jenis pakan terhadap pertumbuhan dan sintasan ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Samudra Akuatika*. **1** (2): 11-15.
- Sirumapea, L dan Aswardi. 2016. Perbandingan daya antioksidan antara ekstrak total dan hasil fraksinasi petai dan kulit petai (*Parkia speciosa* Hassk.) dengan metode penangkalan radikal bebas DPPH. *Jurnal Ilmiah Bakti Farmasi*. **1** (1): 23-30.
- Soelama, H. J. J., B. J. Kepel dan K. V. Siagian. 2015. Uji *minimum inhibitory concentration* (MIC) ekstrak rumput laut (*Eucheuma cottonii*) sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*. *Jurnal e-GiGi*. **3** (2): 374-379.
- Sukenda, L. Jamal, D. Wahjuningrum dan A. Hasan. 2008. Penggunaan kitosan untuk pencegahan infeksi *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele dumbo *Clarias* sp. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **7** (2): 159-169.
- Sunanto, H. 1992. Budidaya Petai dan Aspek Ekonominya. Kanisius. Yogyakarta. 40 hlm.
- Suyanto, S. R. 2010. Pembenihan dan Pembesaran Nila. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Thomas, J., S. Thanigaivel, S. Vijayakumar, K. Acharya, D. Shinge, T. S. J. Seelan, A. Mukherjee and N. Chandrasekaran. 2014. Pathogenicity of *Pseudomonas aeruginosa* in *Oreochromis mossambicus* and treatment using lime oil nanoemulsion. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. **116**: 372-377.
- Tizard, I. R. 1988. Pengantar Imunologi Veteriner. Ed. 2. Penerbit Universitas Airlangga. Surabaya. 497 hlm. (diterjemahkan oleh Partodirejo, M dan S. Hardjosworo).
- Tjay, T. H dan K. Rahardja. 2007. Obat-obat Penting, Khasiat Penggunaan dan Efek Sampingnya. Elex Media Komputindo. Jakarta. 915 hlm.
- Utami, D. T., S. B. Prayitno, S. Hastuti dan A. Santika. 2013. Gambaran parameter hematologis pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberi vaksin DNA *Streptococcus iniae* dengan dosis yang berbeda. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **2** (4): 7-20.

- Verawaty dan D. C. Novel. 2018. Efek ekstrak etanol kulit petai (*Parkia speciosa* Hassk.) terhadap penurunan kadar glukosa darah mencit jantan. *Jurnal Katalisator*. **3** (1): 1-6.
- Wedemeyer, G. A. 1997. Effects of Rearing Conditions on The Health and Physiological Quality of Fish in Intensive Culture. In *Fish Stress and Health in Aquaculture*. Vol 62 (ed. G. K. Iwama, A. D. Pickering, J. P. Sumpter and C. B. Schreck), pp 35-71. Cambridge University Press. Cambridge.
- Widowati, I., S. Efiyati dan S. Wahyuningtyas. 2014. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap bakteri pembusuk ikan segar (*Pseudomonas aeruginosa*). *PELITA*. **9** (1): 146-157.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat Penelitian



Timbangan digital



Oven



Toples kaca 2 L



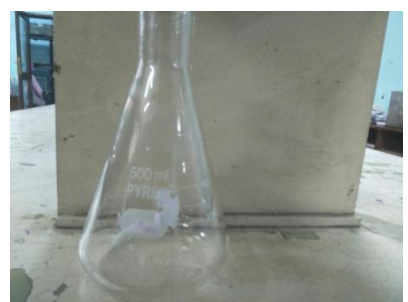
Gelas ukur



Spatula



Corong



Erlenmeyer



Rotary Evaporator

Lampiran 1. (lanjutan)



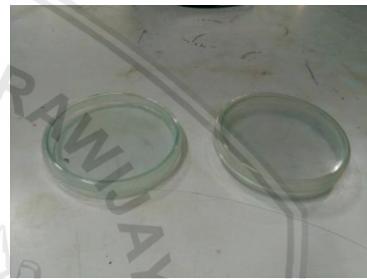
Botol film



Lemari pendingin



Sendok



Cawan petri



Autoklaf



Laminary Air Flow



Hotplate



Inkubator

Lampiran 1. (lanjutan)

 <p>Tabung reaksi</p>	 <p>Rak tabung reaksi</p>
 <p>Bunsen</p>	 <p>Sprayer</p>
 <p>Pipet serologis</p>	 <p>Bola hisap</p>
 <p>Jarum ose</p>	 <p>Mikropipet</p>

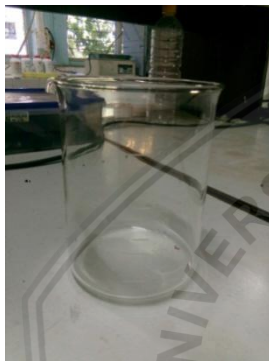
Lampiran 1. (lanjutan)



Gunting



Nampan



Beaker glass



Vortex mixer



Cotton swab



Spektrofotometer



Akuarium (80x40x40cm)



Toples plastik 16 L

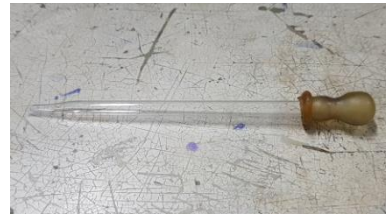
Lampiran 1. (lanjutan)

 <p>Selang aerator</p>	 <p>Batu aerator</p>
 <p>Seser</p>	 <p>DO meter</p>
 <p>pH meter</p>	 <p>Sprit</p>
 <p>Appendorf</p>	 <p>Hemofuge</p>

Lampiran 1. (lanjutan)



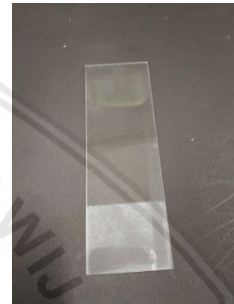
Sahli Haemometer



Pipet tetes



Haemocytometer + cover glass



Object glass



Mikroskop

Lampiran 2. Bahan Penelitian



Kulit buah petai (*P. speciosa*)



Etanol 96%



Kertas label



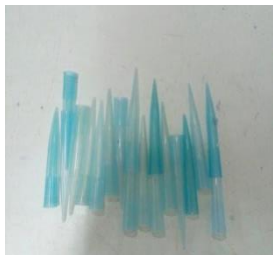
Kertas saring



DMSO 10%



Bakteri *P. aeruginosa*











Blue tip



Alkohol 70%

Lampiran 2. (lanjutan)

 <p>Media (PSA dan TSB)</p>	 <p>Ekstrak kasar kulit buah petai (<i>P. speciosa</i>)</p>
 <p>Antibiotik <i>Tetracycline</i></p>	 <p>BaCl</p>
 <p>H₂SO₄</p>	 <p>Blank disk</p>
 <p>Tisu</p>	 <p>Masker</p>

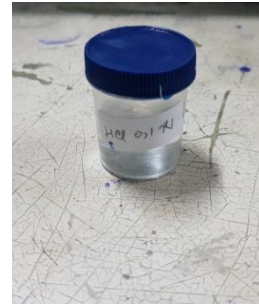
Lampiran 2. (lanjutan)

	
<p>Lateks</p>	<p>Akuades</p>
	
<p>Kapas</p>	<p>Aluminium foil</p>
	
<p>Plastik wrap</p>	<p>Ikan nila (<i>O. niloticus</i>) 8-10 cm</p>
	
<p>Sampel darah ikan nila</p>	<p>EDTA</p>

Lampiran 2. (lanjutan)



Tabung mikrohematokrit



HCl 0,1 N



Larutan Hayem



Larutan Turk



Metanol



Larutan Giemsa 10%

Lampiran 3. Analisis Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Kulit Buah Petai (*P. speciosa*)



**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU**
Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu
KOTA BATU

65313

Nomor : 074 / 138D / 102.7 / 2018
Sifat : Biasa
Perihal : **Surat Keterangan Analisa Kualitatif**

Bersama ini kami sampaikan hasil analisa berikut ini :

1. **Identitas Pemohon**

Nama	NIM	Fakultas
Ulifatul Safitri	155080507111044	Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya
Farida Mauludia	155080501111024	
Dwi Ayuning	155080507111005	
Evi Zulfiana	155080507111024	





2. **Identitas Sampel**




Nama daerah sampel : Pete
Nama latin : *Parkia speciosa*
Bagian sampel : Kulit
Bentuk sampel : Ekstrak
Pelarut : Etanol 96%
Asal sampel : -
Tanggal penerimaan : 19 Desember 2018
Tanggal pemeriksaan : 20 Desember 2018

3. **Hasil**

No	Identifikasi Senyawa	Parameter	Hasil
1.	Flavonoid	Merah Bata, Merah Muda, Merah Tua	Positif
2.	Alkaloid	Meyer	Endapan Putih
		Dragendrof	Endapan Jingga
		Bouchardat	Endapan Cokelat
3.	Tanin	Hijau Kehitaman, Biru Kehitaman, Coklat Kehitaman	Positif
4.	Terpenoid	Steroid	Hijau Kebiruan
		Triterpenoid	Orange, Jingga Kecokelatan
		Saponin	Busa Permanen

4. **Lampiran**

Nama Sampel	Flavonoid	Alkaloid		
		Meyer	Dragendrof	Bouchardat
Kulit Pete (<i>Parkia speciosa</i>)				

Nama Sampel	Tanin	Terpenoid	Saponin
Kulit Pete (<i>Parkia speciosa</i>)			

Lampiran 4. Analisis Uji Biokimia *P. aeruginosa*



**UNIT LAYANAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Kampus C Mulyorejo Surabaya (60115) Telephon 62 – 31 5936501, Faks 62 – 31 5926804, 5936502
E-mail : unitlayanan.biologiua@gmail.com

LAPORAN HASIL PENGUJIAN

Pemesan Isolat : Dwi Ayuning H. FPK UB
Tanggal Isolat : 10 Desember 2018
Jenis Isolat : *Pseudomonas aeruginosa*
Kemasan Isolat : Tabung Agar Miring
Asal Isolat : Aquaculture

HASIL ANALISIS

Hasil identifikasi berdasarkan sifat morfologis dan uji fisiologis sebagai berikut :

Uji Biokimia	Hasil Identifikasi
Sifat Gram	Negatif
Morfologi sel	Batang
Pigmentasi	Blue – Green
Arginin	+
Oksidase	+
Denitrifikasi	+
Gelatin	+
Strach	+
Glukosa	+
Trehalosa	-
Alfa-keto	+
Inositol	-
Valine	-
Alanin	+
Xylosa	-
Sukrosa	-
Malonat	-
Rhamosa	-
Ribosa	-

Mengetahui,


Sekretaris

UNIT LAYANAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dr. Junairiah, M.Kes
NIP. 197107142002122002

Surabaya, 10 Desember 2018

Penyelia,


Drs. Agus Supriyanto, M.Kes
NIP. 196208241989031002



Lampiran 5. Perhitungan Kadar Air dan Rendemen Ekstrak Kasar Kulit Buah Petai (*P. speciosa*)

- Kadar air

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Berat basah}}{\text{Berat kering}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar air} = \frac{5}{8} \times 100\%$$

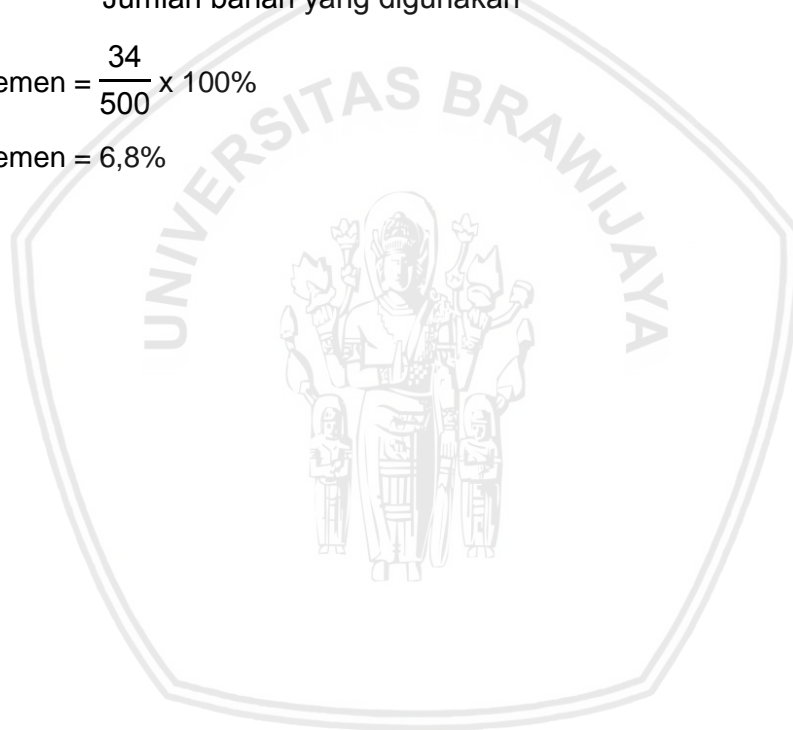
$$\text{Kadar air} = 62,5\%$$

- Rendemen

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Jumlah ekstrak yang diperoleh}}{\text{Jumlah bahan yang digunakan}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = \frac{34}{500} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = 6,8\%$$



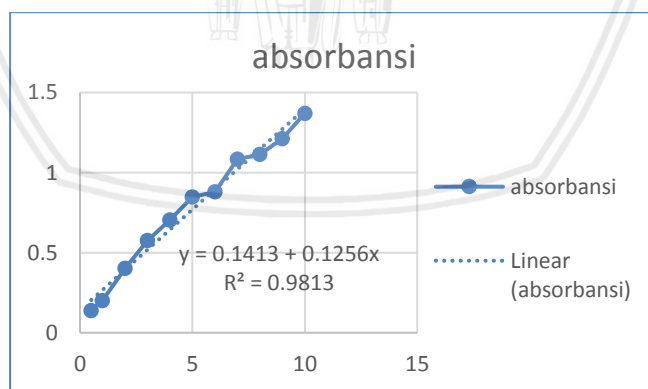
Lampiran 6. Perhitungan Kepadatan Bakteri dengan Mc Farland

a. Perhitungan kepadatan Bakteri Awal menggunakan metode Mc Farland

- Didapatkan nilai absorbansi dari larutan standar Mc Farland adalah sebagai berikut:

Mc Farland	
ppm	Absorbansi
0,5	0,138
1	0,2
2	0,401
3	0,576
4	0,704
5	0,848
6	0,880
7	1,083
8	1,114
9	1,212
10	1,370

- Kemudian data tersebut dimasukkan kedalam grafik regresi dan didapatkan rumus perhitungan yang digunakan untuk menghitung kepadatan awal bakteri *P. aeruginosa*.



- Dari rumus diatas, dapat dihitung kepadatan awal bakteri *P. aeruginosa*.

Adapun perhitungannya adalah sebagai berikut:

$$y = 0,1413 + 0,1256x$$

$$x = \frac{y - 0,1413}{0,1256}$$

Lampiran 6. (lanjutan)

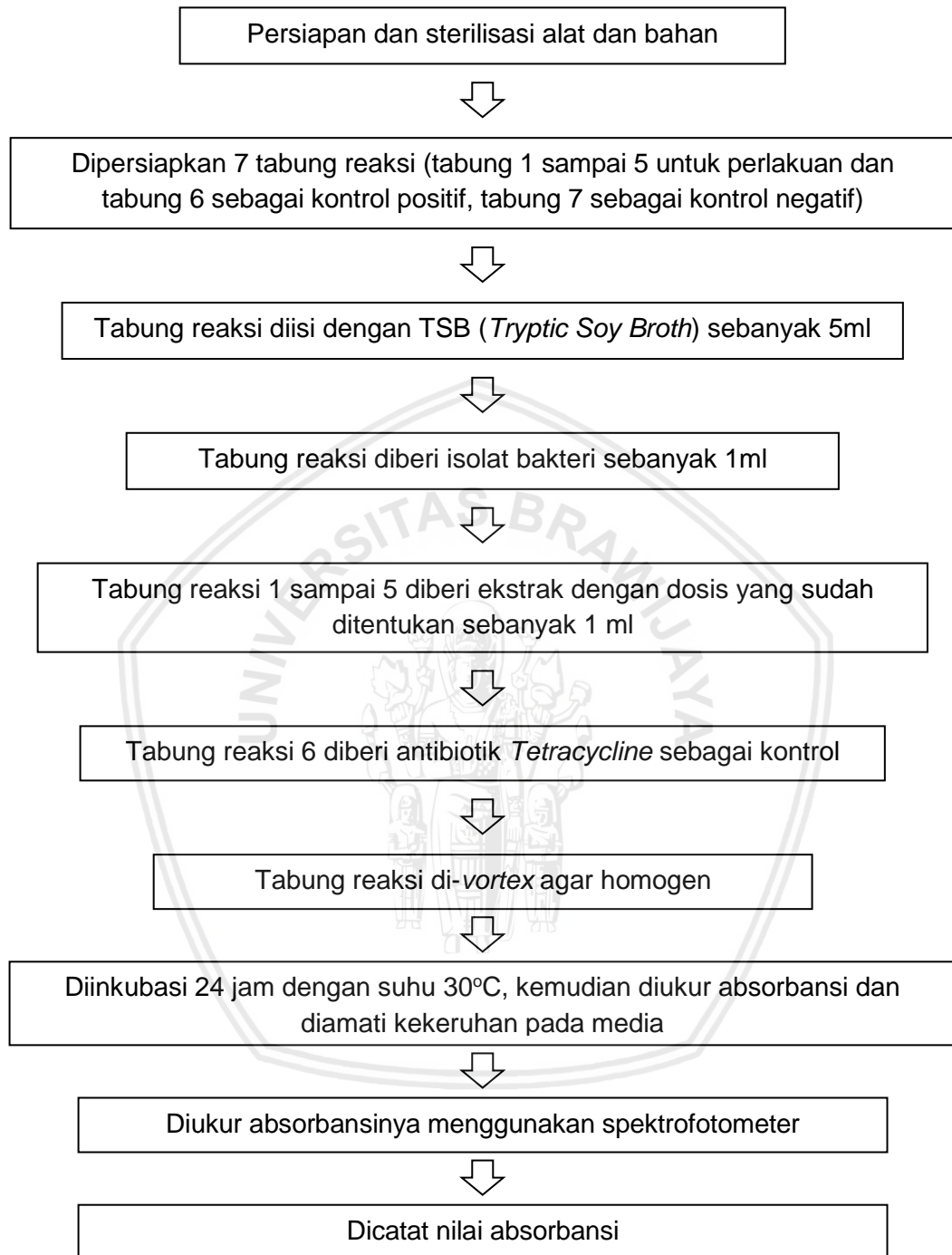
(ppm)	Absorbansi (y)	Mc Farland (x)	sel/ml
1000	0,058	0,5	$<3 \times 10^8$
500	0,105	0,5	$<3 \times 10^8$
100	0,157	0,5	$<3 \times 10^8$
10	0,188	0,5	$<3 \times 10^8$
1	0,204	0,5	$<3 \times 10^8$
+	0,188	0,5	$<3 \times 10^8$
-	0,518	1	3×10^8

- Setelah perhitungan nilai Mc Farland diketahui, dilakukan penyetaraan suspensi bakteri dengan larutan standar Mc Farland, didapatkan jumlah kepadatan awal bakteri *P. aeruginosa* (sel/ml).
- Kepadatan bakteri awal yaitu disesuaikan dengan nilai dosis yang digunakan sebagai dosis minimum yang dapat menghambat bakteri, diperoleh nilai uji log adalah 10 ppm, sehingga diketahui kepadatan awal bakteri *P. aeruginosa* adalah $<3 \times 10^8$ sel/ml.

b. Kepadatan Bakteri 10^7 sel/ml

- Kepadatan bakteri yang digunakan untuk penginfeksi adalah 10^7 .
- Untuk mendapatkan kepadatan 10^7 , dilakukan pembuatan bakteri induk dengan cara menanam bakteri pada media TSB dengan volume 6000 ml, yang diinkubasi pada inkubator selama 24 jam, kemudian bakteri induk dihitung nilai absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer *UV 1700 PharmaSpec UV-Vis Spectrophotometry Simadzu* dengan panjang gelombang 600 nm.
- Hasil absorbansi kemudian dimasukkan kedalam rumus perhitungan pada grafik untuk mendapatkan jumlah kepadatan bakteri induk.

Lampiran 7. Skema Uji MIC



Lampiran 8. Perhitungan Dosis Ekstrak pada Uji MIC

Pelarut yang digunakan dalam pembuatan ekstrak dosis uji yaitu akuades steril dan DMSO sebanyak 10%, adapun dosis yang digunakan dan perhitungannya adalah sebagai berikut :

- Perhitungan DMSO 10%

$$\text{DMSO 10\%} = \frac{10}{100} \times 20 \text{ ml} = 2 \text{ ml DMSO} + 18 \text{ ml akuades steril}$$

Larutan stok DMSO 10 % terbuat dari 2 ml DMSO 100% yang dilarutkan 18 ml akuades steril. Kemudian dilakukan pengenceran untuk mendapatkan dosis ekstrak yang diinginkan.

$$\text{1000 ppm (larutan stok)} \rightarrow \frac{1000}{1000} \times 5 \text{ ml} = 5 \text{ mg ekstrak} + 5 \text{ ml DMSO 10\%}$$

$$\text{500 ppm} \rightarrow \frac{500}{1000} \times 3 \text{ ml} = 1,5 \text{ ml ekstrak} + 1,5 \text{ ml DMSO 10\%}$$

$$\text{100 ppm} \rightarrow \frac{100}{1000} \times 3 \text{ ml} = 0,3 \text{ ml ekstrak} + 2,7 \text{ ml DMSO 10\%}$$

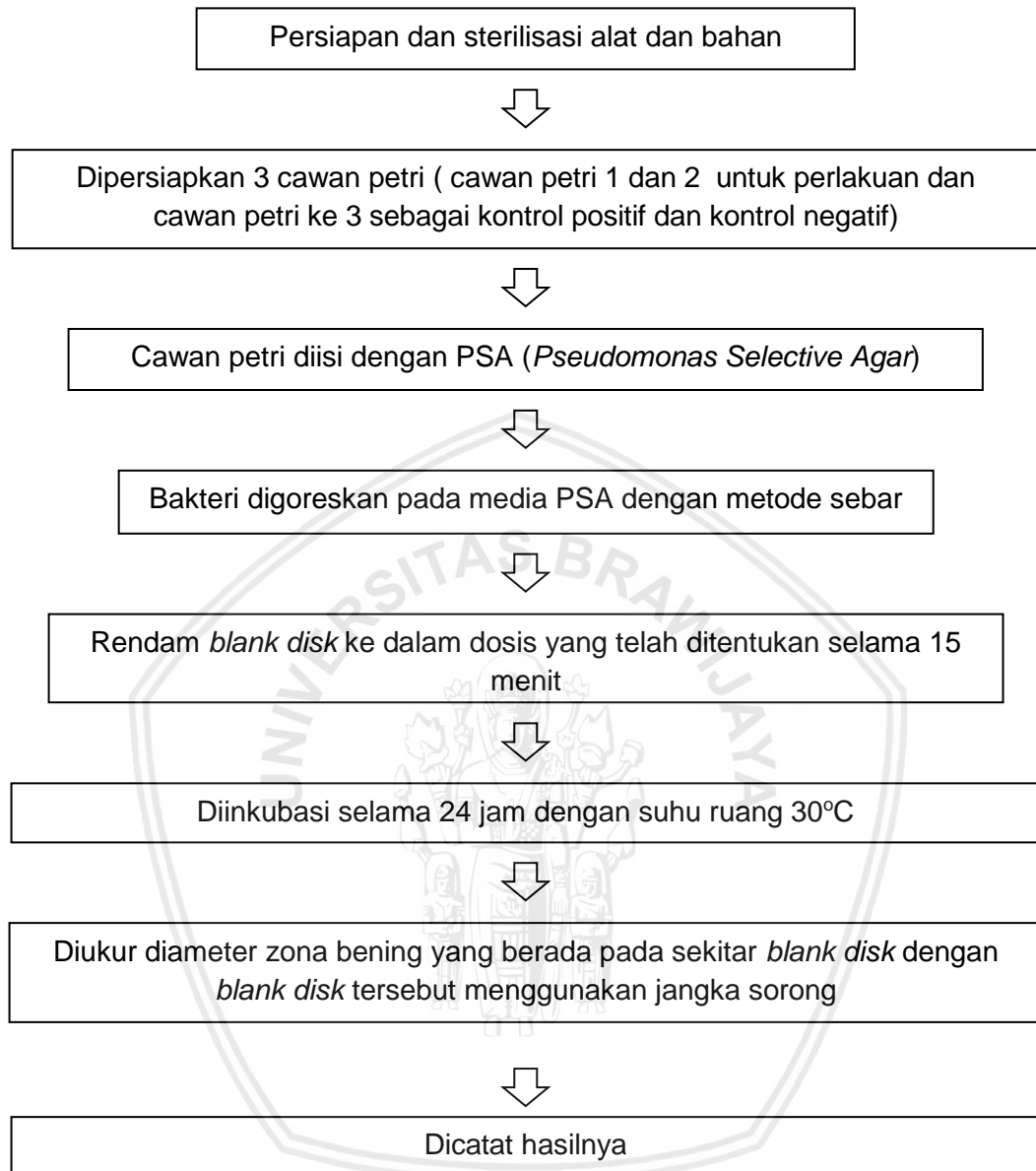
$$\text{10 ppm} \rightarrow \frac{10}{1000} \times 3 \text{ ml} = 0,03 \text{ ml ekstrak} + 2,97 \text{ ml DMSO 10\%}$$

$$\text{1 ppm} \rightarrow \frac{1}{1000} \times 3 \text{ ml} = 0,003 \text{ ml ekstrak} + 2,997 \text{ ml DMSO 10\%}$$

$$\text{Tetracycline (30 ppm)} \rightarrow \frac{0,03 \text{ g}}{1 \text{ L}} = \frac{x}{1000 \text{ ml}}$$

$$= 0,03 \text{ g antibiotik} \times 1000 \text{ ml} = 30 \text{ mg/l}$$

Lampiran 9. Skema Uji Cakram



Lampiran 10. Perhitungan Pengenceran pada Uji *In Vivo*

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 3 \times 10^8 = 10.000 \times 10^7$$

$$V_1 = \frac{1 \times 10^{11}}{3 \times 10^8}$$

$$= \frac{1 \times 10^3}{3}$$

$$= \frac{1000}{3}$$

$$= 333 \text{ ml}$$



Lampiran 11. Perhitungan Dosis pada Uji *In Vivo*

Volume yang digunakan dalam penelitian yaitu 10.000 ml atau 10 L.

Adapun perhitungan dosis ekstrak adalah sebagai berikut :

$$10 \text{ ppm} = \frac{10 \text{ mg}}{1 \text{ L}}$$

$$\rightarrow \frac{10 \text{ mg}}{10 \text{ L}} \times 10 \text{ L} = \frac{100 \text{ mg}}{10 \text{ L}} = \frac{0,1 \text{ g}}{10 \text{ L}}$$

$$25 \text{ ppm} = \frac{25 \text{ mg}}{1 \text{ L}}$$

$$\rightarrow \frac{25 \text{ mg}}{10 \text{ L}} \times 10 \text{ L} = \frac{250 \text{ mg}}{10 \text{ L}} = \frac{0,25 \text{ g}}{10 \text{ L}}$$

$$40 \text{ ppm} = \frac{40 \text{ mg}}{1 \text{ L}}$$

$$\rightarrow \frac{40 \text{ mg}}{10 \text{ L}} \times 10 \text{ L} = \frac{400 \text{ mg}}{10 \text{ L}} = \frac{0,4 \text{ g}}{10 \text{ L}}$$

$$55 \text{ ppm} = \frac{55 \text{ mg}}{1 \text{ L}}$$

$$\rightarrow \frac{55 \text{ mg}}{10 \text{ L}} \times 10 \text{ L} = \frac{550 \text{ mg}}{10 \text{ L}} = \frac{0,55 \text{ g}}{10 \text{ L}}$$

$$\text{Tetracycline } 30 \text{ ppm} = \frac{30 \text{ mg}}{1 \text{ L}}$$

$$\rightarrow \frac{30 \text{ mg}}{10 \text{ L}} \times 10 \text{ L} = \frac{300 \text{ mg}}{10 \text{ L}} = \frac{0,3 \text{ g}}{10 \text{ L}}$$

Lampiran 12. Hasil Perhitungan Uji Cakram

• Perhitungan Sidik Ragam

- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan = $\frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} = \frac{10,57}{3} = 3,52$
- Kuadrat Tengah (KT) Acak = $\frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} = \frac{1,92}{4} = 0,48$
- F Hitung = $\frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} = \frac{3,52}{0,48} = 7,33$

• Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

- $SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{r}} = 0,69$
- BNT 5% = t tabel 5% (db acak) x SED = 1,92
- BNT 1% = t tabel 1% (db acak) x SED = 4,60 x 0,69 = 3,18

• Tabel Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)	
		Linier	Kuadratik
A	14.20	-1	1
B	15.15	0	-2
C	17.85	1	1
D	20.05	0	0
Q = $\sum (ci \cdot Ti)$		3.65	1.75
Hasil Kuadrat		2	6
Kr = $(\sum ci^2) \cdot r$		4	12
JK = Q^2 / Kr		3.33	0.26
JK Regresi		3.59	

Lampiran 13. Hasil Perhitungan Jumlah Sel Darah Merah (Eritrosit)

- **Data Pengamatan Eritrosit Keseluruhan**

Perlakuan	12 jam	24 jam	36 jam	48 jam	Rerata
A1	1.56	1.40	1.44	1.60	1.50
A2	1.54	1.38	1.43	1.55	1.48
A3	1.55	1.39	1.48	1.59	1.50
B1	1.55	1.38	1.56	1.62	1.53
B2	1.53	1.37	1.45	1.74	1.52
B3	1.54	1.38	1.58	1.75	1.56
C1	1.54	1.37	1.57	1.67	1.54
C2	1.51	1.35	1.49	1.77	1.53
C3	1.52	1.36	1.64	1.76	1.57
D1	1.53	1.37	1.66	1.78	1.59
D2	1.50	1.34	1.68	1.82	1.59
D3	1.51	1.35	1.72	1.84	1.61
K+1	1.56	1.40	1.69	1.85	1.63
K+2	1.57	1.41	1.74	1.96	1.67
K+3	1.55	1.39	1.76	1.89	1.65
K-1	1.53	1.37	1.32	1.29	1.38
K-2	1.52	1.36	1.35	1.13	1.34
K-3	1.54	1.38	1.41	1.22	1.39

- **Data Pengamatan Eritrosit 12 jam**

- **Perhitungan Sidik Ragam**

- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan = $\frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} = \frac{0,002}{3} = 0,0008$

- Kuadrat Tengah (KT) Acak = $\frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} = \frac{0,001}{8} = 0,0002$

- F Hitung = $\frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} = \frac{0,0008}{0,0002} = 4,87$

- **Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)**

- $SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,0002}{3}} = 0,011$

- BNT 5% = t tabel 5% (db acak) x SED = 2,306 x 0,011 = 0,024

- BNT 1% = t tabel 1% (db acak) x SED = 3,355 x 0,011 = 0,035

Lampiran 13. (lanjutan)

➤ Tabel Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	4.65	-3	1	-1
B	4.62	-1	-1	3
C	4.57	1	-1	-3
D	4.54	3	1	1
Q = Σ (ci*Ti)		-0.38	0.00	0.04
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = (Σci²)*r		60	12	60
JK = Q²/Kr		0.002	0.000	0.000
JK Regresi		0.002		

• Data Pengamatan Eritrosit 24 jam

➤ Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{0,002}{3} = 0,0008$$

$$\text{- Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{0,001}{8} = 0,0001$$

$$\text{- F Hitung} = \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Acak}} = \frac{0,0008}{0,0001} = 7,05$$

➤ Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\text{- SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,0001}{3}} = 0,009$$

$$\text{- BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} = 2,306 \times 0,009 = 0,020$$

$$\text{- BNT 1\%} = t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} = 3,355 \times 0,009 = 0,030$$

➤ Tabel Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	4.17	-3	1	-1
B	4.13	-1	-1	3
C	4.08	1	-1	-3
D	4.06	3	1	1
Q = Σ (ci*Ti)		-0.38	0.02	0.04
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = (Σci²)*r		60	12	60
JK = Q²/Kr		0.002	0.000	0.000
JK Regresi		0.002		

Lampiran 13. (lanjutan)

- **Data Pengamatan Eritrosit 36 jam**

- **Perhitungan Sidik Ragam**

- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan = $\frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} = \frac{0,087}{3} = 0,029$

- Kuadrat Tengah (KT) Acak = $\frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} = \frac{0,024}{8} = 0,003$

- F Hitung = $\frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} = \frac{0,029}{0,003} = 9,56$

- **Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)**

- SED = $\sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,003}{3}} = 0,045$

- BNT 5% = t tabel 5% (db acak) x SED = 2,306 x 0,045 = 0,104

- BNT 1% = t tabel 1% (db acak) x SED = 3,355 x 0,045 = 0,151

- **Tabel Polinomial Ortogonal**

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	4.35	-3	1	-1
B	4.59	-1	-1	3
C	4.70	1	-1	-3
D	5.06	3	1	1
Q = Σ (ci*Ti)		2.24	0.12	0.38
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = (Σci^2)*r		60	12	60
JK = Q^2/Kr		0.084	0.001	0.002
JK Regresi		0.087		

- **Data Pengamatan Eritrosit 48 jam**

- **Perhitungan Sidik Ragam**

- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan = $\frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} = \frac{0,084}{3} = 0,028$

- Kuadrat Tengah (KT) Acak = $\frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} = \frac{0,020}{8} = 0,002$

- F Hitung = $\frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} = \frac{0,028}{0,002} = 11,37$

Lampiran 13. (lanjutan)

➤ **Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)**

$$- \text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,002}{3}} = 0,041$$

$$- \text{BNT } 5\% = t \text{ tabel } 5\% (\text{db acak}) \times \text{SED} = 2,306 \times 0,041 = 0,094$$

$$- \text{BNT } 1\% = t \text{ tabel } 1\% (\text{db acak}) \times \text{SED} = 3,355 \times 0,041 = 0,136$$

➤ **Tabel Polinomial Ortogonal**

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	4.74	-3	1	-1
B	5.11	-1	-1	3
C	5.20	1	-1	-3
D	5.44	3	1	1
Q = $\sum (ci \cdot Ti)$		2.19	-0.13	0.43
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = $(\sum ci^2) \cdot r$		60	12	60
JK = Q^2 / Kr		0.080	0.001	0.003
JK Regresi		0.084		

Lampiran 14. Hasil Perhitungan Jumlah Sel Darah Putih (Leukosit)

• Data Pengamatan Leukosit Keseluruhan

Perlakuan	12 jam	24 jam	36 jam	48 jam	Rerata
A1	19.45	19.75	18.20	16.60	18.50
A2	19.25	19.35	18.35	16.85	18.45
A3	20.10	20.15	17.95	15.90	18.53
B1	20.45	20.55	18.10	16.35	18.86
B2	19.20	19.40	18.30	16.75	18.41
B3	19.05	19.20	17.75	15.55	17.89
C1	20.10	20.05	17.85	15.30	18.33
C2	21.15	21.20	17.25	15.45	18.76
C3	20.95	21.10	16.60	14.80	18.36
D1	22.20	22.35	16.70	14.20	18.86
D2	20.25	20.75	16.15	14.65	17.95
D3	21.80	21.90	15.45	14.05	18.30
K+1	21.15	21.25	14.50	12.90	17.45
K+2	19.05	19.15	13.10	12.15	15.86
K+3	22.32	22.65	14.35	13.75	18.27
K-1	19.45	20.55	20.95	21.20	20.54
K-2	21.50	21.95	23.15	24.05	22.66
K-3	20.70	21.20	22.30	22.85	21.76

• Data Pengamatan Leukosit 12 jam

➤ Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{7,38}{3} = 2,46$$

$$\text{- Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{4,32}{8} = 0,54$$

$$\text{- F Hitung} = \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Acak}} = \frac{2,46}{0,54} = 4,55$$

➤ Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\text{- SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,54}{3}} = 0,600$$

$$\text{- BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} = 2,306 \times 0,600 = 1,384$$

$$\text{- BNT 1\%} = t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} = 3,355 \times 0,600 = 2,013$$

Lampiran 14. (lanjutan)

➤ Tabel Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	58.80	-3	1	-1
B	58.70	-1	-1	3
C	62.20	1	-1	-3
D	64.25	3	1	1
Q = Σ (ci*Ti)		19.85	2.15	-5.05
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = (Σci²)*r		60	12	60
JK = Q²/Kr		6.57	0.39	0.43
JK Regresi		7.38		

• Data Pengamatan Leukosit 24 jam

➤ Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{7,85}{3} = 2,62$$

$$\text{- Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{3,56}{8} = 0,44$$

$$\text{- F Hitung} = \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Acak}} = \frac{2,62}{0,44} = 5,89$$

➤ Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\text{- SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,44}{3}} = 0,544$$

$$\text{- BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} = 2,306 \times 0,544 = 1,255$$

$$\text{- BNT 1\%} = t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} = 3,355 \times 0,544 = 1,826$$

➤ Tabel Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	59.25	-3	1	-1
B	59.15	-1	-1	3
C	62.35	1	-1	-3
D	65.00	3	1	1
Q = Σ (ci*Ti)		20.45	2.75	-3.85
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = (Σci²)*r		60	12	60
JK = Q²/Kr		6.97	0.63	0.25
JK Regresi		7.85		

Lampiran 14. (lanjutan)

- **Data Pengamatan Leukosit 36 jam**

- **Perhitungan Sidik Ragam**

- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan = $\frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} = \frac{8,18}{3} = 2,73$

- Kuadrat Tengah (KT) Acak = $\frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} = \frac{1,80}{8} = 0,23$

- F Hitung = $\frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} = \frac{2,73}{0,23} = 12,10$

- **Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)**

- SED = $\sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,23}{3}} = 0,388$

- BNT 5% = t tabel 5% (db acak) x SED = 2,306 x 0,388 = 0,894

- BNT 1% = t tabel 1% (db acak) x SED = 3,355 x 0,388 = 1,301

- **Tabel Polinomial Ortogonal**

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	54.50	-3	1	-1
B	54.15	-1	-1	3
C	51.70	1	-1	-3
D	48.30	3	1	1
Q = $\sum (ci \cdot Ti)$		-21.05	-3.05	1.15
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = $(\sum ci^2) \cdot r$		60	12	60
JK = Q^2 / Kr		7.39	0.78	0.02
JK Regresi		8.18		

- **Data Pengamatan Leukosit 48 jam**

- **Perhitungan Sidik Ragam**

- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan = $\frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} = \frac{8,85}{3} = 2,95$

- Kuadrat Tengah (KT) Acak = $\frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} = \frac{1,66}{8} = 0,21$

- F Hitung = $\frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} = \frac{2,95}{0,21} = 14,23$

Lampiran 14. (lanjutan)

➤ Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$- \text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,21}{3}} = 0,372$$

$$- \text{BNT } 5\% = t \text{ tabel } 5\% (\text{db acak}) \times \text{SED} = 2,306 \times 0,372 = 0,857$$

$$- \text{BNT } 1\% = t \text{ tabel } 1\% (\text{db acak}) \times \text{SED} = 3,355 \times 0,372 = 1,247$$

➤ Tabel Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	49.35	-3	1	-1
B	48.65	-1	-1	3
C	45.55	1	-1	-3
D	42.90	3	1	1
Q = $\sum (ci \cdot Ti)$		-22.45	-1.95	2.85
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = $(\sum ci^2) \cdot r$		60	12	60
JK = Q^2 / Kr		8.40	0.32	0.14
JK Regresi		8.85		

Lampiran 15. Hasil Perhitungan Jumlah Limfosit

• Data Pengamatan Limfosit Keseluruhan

Perlakuan	12 jam	24 jam	36 jam	48 jam	Rerata
A1	86.00	93.00	89.00	87.00	88.75
A2	84.00	92.00	90.00	89.00	88.75
A3	87.00	92.00	88.00	88.00	88.75
B1	87.00	95.00	87.00	86.00	88.75
B2	85.00	93.00	89.00	86.00	88.25
B3	86.00	94.00	87.00	87.00	88.50
C1	87.00	93.00	86.00	85.00	87.75
C2	88.00	94.00	88.00	86.00	89.00
C3	89.00	93.00	85.00	86.00	88.25
D1	88.00	96.00	85.00	85.00	88.50
D2	89.00	95.00	86.00	85.00	88.75
D3	88.00	94.00	84.00	84.00	87.50
K+1	87.00	93.00	85.00	85.00	87.50
K+2	85.00	92.00	84.00	84.00	86.25
K+3	86.00	91.00	82.00	85.00	86.00
K-1	85.00	93.00	85.00	88.00	87.75
K-2	87.00	95.00	86.00	89.00	89.25
K-3	86.00	94.00	86.00	87.00	88.25

• Data Pengamatan Limfosit 12 jam

➤ Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{16,67}{3} = 5,56$$

$$\text{- Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{9,33}{8} = 1,17$$

$$\text{- F Hitung} = \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Acak}} = \frac{5,56}{1,17} = 4,76$$

➤ Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\text{- SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 1,17}{3}} = 0,882$$

$$\text{- BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} = 2,306 \times 0,882 = 2,034$$

$$\text{- BNT 1\%} = t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} = 3,355 \times 0,882 = 2,959$$

Lampiran 15. (lanjutan)

➤ Tabel Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	257.00	-3	1	-1
B	258.00	-1	-1	3
C	264.00	1	-1	-3
D	265.00	3	1	1
Q = Σ (ci*Ti)		30.00	0.00	-10.00
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = (Σci²)*r		60	12	60
JK = Q²/Kr		15.00	0.00	1.67
JK Regresi		16.67		

• Data Pengamatan Limfosit 24 jam

➤ Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{11,33}{3} = 3,78$$

$$\text{- Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{5,33}{8} = 0,67$$

$$\text{- F Hitung} = \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Acak}} = \frac{3,78}{0,67} = 5,67$$

➤ Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\text{- SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,67}{3}} = 0,667$$

$$\text{- BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} = 2,306 \times 0,667 = 1,537$$

$$\text{- BNT 1\%} = t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} = 3,355 \times 0,667 = 2,237$$

➤ Tabel Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	277.00	-3	1	-1
B	282.00	-1	-1	3
C	280.00	1	-1	-3
D	285.00	3	1	1
Q = Σ (ci*Ti)		22.00	0.00	14.00
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = (Σci²)*r		60	12	60
JK = Q²/Kr		8.07	0.00	3.27
JK Regresi		11.33		

Lampiran 15. (lanjutan)

- **Data Pengamatan Limfosit 36 jam**

- **Perhitungan Sidik Ragam**

- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan = $\frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} = \frac{26,67}{3} = 8,89$

- Kuadrat Tengah (KT) Acak = $\frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} = \frac{11,33}{8} = 1,42$

- F Hitung = $\frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} = \frac{8,89}{1,42} = 6,27$

- **Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)**

- SED = $\sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 1,42}{3}} = 0,972$

- BNT 5% = t tabel 5% (db acak) x SED = 2,306 x 0,972 = 2,241

- BNT 1% = t tabel 1% (db acak) x SED = 3,355 x 0,972 = 3,261

- **Tabel Polinomial Ortogonal**

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	267.00	-3	1	-1
B	263.00	-1	-1	3
C	259.00	1	-1	-3
D	255.00	3	1	1
Q = Σ (ci*Ti)		-40.00	0.00	0.00
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = (Σci²)*r		60	12	60
JK = Q²/Kr		26.67	0.00	0.00
JK Regresi		26.67		

- **Data Pengamatan Limfosit 48 jam**

- **Perhitungan Sidik Ragam**

- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan = $\frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} = \frac{17,67}{3} = 5,89$

- Kuadrat Tengah (KT) Acak = $\frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} = \frac{4,00}{8} = 0,50$

- F Hitung = $\frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} = \frac{5,89}{0,50} = 11,78$

Lampiran 15. (lanjutan)

➤ **Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)**

$$- \text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,50}{3}} = 0,577$$

$$- \text{BNT } 5\% = t \text{ tabel } 5\% (\text{db acak}) \times \text{SED} \\ = 2,306 \times 0,577 = 1,331$$

$$- \text{BNT } 1\% = t \text{ tabel } 1\% (\text{db acak}) \times \text{SED} \\ = 3,355 \times 0,577 = 1,937$$

➤ **Tabel Polinomial Ortogonal**

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	264.00	-3	1	-1
B	259.00	-1	-1	3
C	257.00	1	-1	-3
D	254.00	3	1	1
Q = Σ (ci*Ti)		-32.00	2.00	-4.00
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = (Σci^2)*r		60	12	60
JK = Q^2/Kr		17.07	0.33	0.27
JK Regresi		17.67		

Lampiran 16. Hasil Perhitungan Jumlah Monosit

• Data Pengamatan Monosit Keseluruhan

Perlakuan	12 jam	24 jam	36 jam	48 jam	Rerata
A1	7.00	9.00	9.00	8.00	8.25
A2	8.00	10.00	9.00	8.00	8.75
A3	6.00	9.00	8.00	7.00	7.50
B1	8.00	10.00	8.00	7.00	8.25
B2	9.00	11.00	9.00	6.00	8.75
B3	7.00	12.00	6.00	6.00	7.75
C1	9.00	11.00	7.00	6.00	8.25
C2	11.00	14.00	7.00	5.00	9.25
C3	8.00	13.00	6.00	4.00	7.75
D1	10.00	12.00	5.00	5.00	8.00
D2	12.00	14.00	6.00	4.00	9.00
D3	10.00	16.00	5.00	4.00	8.75
K+1	7.00	9.00	5.00	4.00	6.25
K+2	8.00	10.00	6.00	5.00	7.25
K+3	9.00	11.00	7.00	4.00	7.75
K-1	8.00	10.00	11.00	12.00	10.25
K-2	11.00	13.00	14.00	15.00	13.25
K-3	10.00	12.00	13.00	14.00	12.25

• Data Pengamatan Monosit 12 jam

➤ Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{22,92}{3} = 7,64$$

$$\text{- Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{11,33}{8} = 1,42$$

$$\text{- F Hitung} = \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Acak}} = \frac{7,64}{1,42} = 5,39$$

➤ Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\text{- SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 1,42}{3}} = 0,972$$

$$\text{- BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} = 2,306 \times 0,972 = 2,241$$

$$\text{- BNT 1\%} = t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} = 3,355 \times 0,972 = 3,261$$

Lampiran 16. (lanjutan)

➤ Tabel Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	21.00	-3	1	-1
B	24.00	-1	-1	3
C	28.00	1	-1	-3
D	32.00	3	1	1
Q = Σ (ci*Ti)		37.00	1.00	-1.00
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = (Σci^2)*r		60	12	60
JK = Q^2/Kr		22.82	0.08	0.02
JK Regresi		22.92		

• Data Pengamatan Monosit 24 jam

➤ Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{36,92}{3} = 12,31$$

$$\text{- Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{15,33}{8} = 1,92$$

$$\text{- F Hitung} = \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Acak}} = \frac{12,31}{1,92} = 6,42$$

➤ Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\text{- SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 1,92}{3}} = 1,130$$

$$\text{- BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} = 2,306 \times 1,130 = 2,607$$

$$\text{- BNT 1\%} = t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} = 3,355 \times 1,130 = 3,793$$

➤ Tabel Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	28.00	-3	1	-1
B	33.00	-1	-1	3
C	38.00	1	-1	-3
D	42.00	3	1	1
Q = Σ (ci*Ti)		47.00	-1.00	-1.00
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = (Σci^2)*r		60	12	60
JK = Q^2/Kr		36.82	0.08	0.02
JK Regresi		36.92		

Lampiran 16. (lanjutan)

- **Data Pengamatan Monosit 36 jam**

- **Perhitungan Sidik Ragam**

- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan = $\frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} = \frac{18,25}{3} = 6,08$

- Kuadrat Tengah (KT) Acak = $\frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} = \frac{6,67}{8} = 0,83$

- F Hitung = $\frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} = \frac{6,08}{0,83} = 7,30$

- **Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)**

- SED = $\sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,83}{3}} = 0,745$

- BNT 5% = t tabel 5% (db acak) x SED = 2,306 x 0,745 = 1,719

- BNT 1% = t tabel 1% (db acak) x SED = 3,355 x 0,745 = 2,501

- **Tabel Polinomial Ortogonal**

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	26.00	-3	1	-1
B	23.00	-1	-1	3
C	20.00	1	-1	-3
D	16.00	3	1	1
Q = Σ (ci*Ti)		-33.00	-1.00	-1.00
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = (Σci²)*r		60	12	60
JK = Q²/Kr		18.15	0.08	0.02
JK Regresi		18.25		

- **Data Pengamatan Monosit 48 jam**

- **Perhitungan Sidik Ragam**

- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan = $\frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} = \frac{19,67}{3} = 6,56$

- Kuadrat Tengah (KT) Acak = $\frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} = \frac{4,00}{8} = 0,50$

- F Hitung = $\frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} = \frac{6,56}{0,50} = 13,11$

Lampiran 16. (lanjutan)

➤ **Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)**

$$- \text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,50}{3}} = 0,577$$

$$- \text{BNT } 5\% = t \text{ tabel } 5\% (\text{db acak}) \times \text{SED} = 2,306 \times 0,577 = 1,331$$

$$- \text{BNT } 1\% = t \text{ tabel } 1\% (\text{db acak}) \times \text{SED} = 3,355 \times 0,577 = 1,937$$

➤ **Tabel Polinomial Ortogonal**

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	23.00	-3	1	-1
B	19.00	-1	-1	3
C	15.00	1	-1	-3
D	13.00	3	1	1
Q = $\Sigma (ci \cdot Ti)$		-34.00	2.00	2.00
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = $(\Sigma ci^2) \cdot r$		60	12	60
JK = Q^2 / Kr		19.27	0.33	0.07
JK Regresi		19.67		

Lampiran 17. Hasil Perhitungan Jumlah Neutrofil

• Data Pengamatan Neutrofil Keseluruhan

Perlakuan	12 jam	24 jam	36 jam	48 jam	Rerata
A1	14.00	16.00	15.00	14.00	14.75
A2	16.00	18.00	17.00	16.00	16.75
A3	15.00	17.00	16.00	15.00	15.75
B1	15.00	17.00	14.00	13.00	14.75
B2	17.00	19.00	16.00	15.00	16.75
B3	16.00	18.00	15.00	14.00	15.75
C1	16.00	18.00	13.00	12.00	14.75
C2	17.00	19.00	14.00	13.00	15.75
C3	17.00	20.00	14.00	13.00	16.00
D1	17.00	20.00	12.00	11.00	15.00
D2	18.00	21.00	13.00	11.00	15.75
D3	18.00	22.00	13.00	12.00	16.25
K+1	16.00	18.00	12.00	11.00	14.25
K+2	18.00	20.00	13.00	12.00	15.75
K+3	17.00	19.00	14.00	12.00	15.50
K-1	18.00	19.00	20.00	21.00	19.50
K-2	16.00	17.00	18.00	19.00	17.50
K-3	17.00	18.00	19.00	20.00	18.50

• Data Pengamatan Neutrofil 12 jam

➤ Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{11,33}{3} = 3,78$$

$$\text{- Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{5,33}{8} = 0,67$$

$$\text{- F Hitung} = \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Acak}} = \frac{3,78}{0,67} = 5,67$$

➤ Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\text{- SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,67}{3}} = 0,667$$

$$\text{- BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} = 2,306 \times 0,667 = 1,537$$

$$\text{- BNT 1\%} = t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} = 3,355 \times 0,667 = 2,237$$

Lampiran 17. (lanjutan)

➤ Tabel Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	45.00	-3	1	-1
B	48.00	-1	-1	3
C	50.00	1	-1	-3
D	53.00	3	1	1
Q = Σ (ci*Ti)		26.00	0.00	2.00
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = (Σci^2)*r		60	12	60
JK = Q^2/Kr		11.27	0.00	0.07
JK Regresi		11.33		

• Data Pengamatan Neutrofil 24 jam

➤ Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{26,25}{3} = 8,75$$

$$\text{- Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{8,00}{8} = 1,00$$

$$\text{- F Hitung} = \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Acak}} = \frac{8,75}{1,00} = 8,75$$

➤ Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\text{- SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 1,00}{3}} = 0,816$$

$$\text{- BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} = 2,306 \times 0,816 = 1,883$$

$$\text{- BNT 1\%} = t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} = 3,355 \times 0,816 = 2,740$$

➤ Tabel Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	51.00	-3	1	-1
B	54.00	-1	-1	3
C	57.00	1	-1	-3
D	63.00	3	1	1
Q = Σ (ci*Ti)		39.00	3.00	3.00
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = (Σci^2)*r		60	12	60
JK = Q^2/Kr		25.35	0.75	0.15
JK Regresi		26.25		

Lampiran 17. (lanjutan)

- **Data Pengamatan Neutrofil 36 jam**

- **Perhitungan Sidik Ragam**

- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan = $\frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} = \frac{19,33}{3} = 6,44$

- Kuadrat Tengah (KT) Acak = $\frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} = \frac{5,33}{8} = 0,67$

- F Hitung = $\frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} = \frac{6,44}{0,67} = 9,67$

- **Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)**

- SED = $\sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,67}{3}} = 0,667$

- BNT 5% = t tabel 5% (db acak) x SED = 2,306 x 0,667 = 1,537

- BNT 1% = t tabel 1% (db acak) x SED = 3,355 x 0,667 = 2,237

- **Tabel Polinomial Ortogonal**

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	48.00	-3	1	-1
B	45.00	-1	-1	3
C	41.00	1	-1	-3
D	38.00	3	1	1
Q = Σ (ci*Ti)		-34.00	0.00	2.00
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = (Σci²)*r		60	12	60
JK = Q²/Kr		19.27	0.00	0.07
JK Regresi		19.33		

- **Data Pengamatan Neutrofil 48 jam**

- **Perhitungan Sidik Ragam**

- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan = $\frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} = \frac{22,92}{3} = 7,64$

- Kuadrat Tengah (KT) Acak = $\frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} = \frac{5,33}{8} = 0,67$

- F Hitung = $\frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} = \frac{7,64}{0,67} = 11,46$

Lampiran 17. (lanjutan)

➤ **Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)**

$$- \text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,67}{3}} = 0,667$$

$$- \text{BNT } 5\% = t \text{ tabel } 5\% (\text{db acak}) \times \text{SED} = 2,306 \times 0,667 = 1,537$$

$$- \text{BNT } 1\% = t \text{ tabel } 1\% (\text{db acak}) \times \text{SED} = 3,355 \times 0,667 = 2,237$$

➤ **Tabel Polinomial Ortogonal**

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	45.00	-3	1	-1
B	42.00	-1	-1	3
C	38.00	1	-1	-3
D	34.00	3	1	1
Q = $\sum (ci \cdot Ti)$		-37.00	-1.00	1.00
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = $(\sum ci^2) \cdot r$		60	12	60
JK = Q^2 / Kr		22.82	0.08	0.02
JK Regresi		22.92		

Lampiran 18. Hasil Perhitungan Kadar Hematokrit

• Data Pengamatan Hematokrit Keseluruhan

Perlakuan	12 jam	24 jam	36 jam	48 jam	Rerata
A1	26.00	25.00	30.00	31.00	28.00
A2	24.00	24.00	29.00	30.00	26.75
A3	26.00	24.00	29.00	31.00	27.50
B1	25.00	24.00	31.00	32.00	28.00
B2	23.00	22.00	32.00	33.00	27.50
B3	25.00	23.00	30.00	32.00	27.50
C1	24.00	23.00	32.00	33.00	28.00
C2	21.00	20.00	33.00	34.00	27.00
C3	23.00	22.00	32.00	33.00	27.50
D1	22.00	21.00	32.00	35.00	27.50
D2	20.00	20.00	33.00	36.00	27.25
D3	22.00	21.00	34.00	34.00	27.75
K+1	25.00	24.00	35.00	36.00	30.00
K+2	26.00	25.00	34.00	37.00	30.50
K+3	27.00	26.00	35.00	38.00	31.50
K-1	23.00	22.00	17.00	15.00	19.25
K-2	22.00	21.00	16.00	14.00	18.25
K-3	24.00	23.00	19.00	17.00	20.75

• Data Pengamatan Hematokrit 12 jam

➤ Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{28,25}{3} = 9,42$$

$$\text{- Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{12,67}{8} = 1,58$$

$$\text{- F Hitung} = \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Acak}} = \frac{9,42}{1,58} = 5,95$$

➤ Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\text{- SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 1,58}{3}} = 1,027$$

$$\text{- BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} = 2,306 \times 1,027 = 2,369$$

$$\text{- BNT 1\%} = t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} = 3,355 \times 1,027 = 3,447$$

Lampiran 18. (lanjutan)

➤ Tabel Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	76.00	-3	1	-1
B	73.00	-1	-1	3
C	68.00	1	-1	-3
D	64.00	3	1	1
Q = Σ (ci*Ti)		-41.00	-1.00	3.00
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = (Σci²)*r		60	12	60
JK = Q²/Kr		28.02	0.08	0.15
JK Regresi		28.25		

• Data Pengamatan Hematokrit 24 jam

➤ Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{22,92}{3} = 7,64$$

$$\text{- Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{8,00}{8} = 1,00$$

$$\text{- F Hitung} = \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Acak}} = \frac{7,64}{1,00} = 7,64$$

➤ Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\text{- SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 1,00}{3}} = 0,816$$

$$\text{- BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} = 2,306 \times 0,816 = 1,883$$

$$\text{- BNT 1\%} = t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} = 3,355 \times 0,816 = 2,740$$

➤ Tabel Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	73.00	-3	1	-1
B	69.00	-1	-1	3
C	65.00	1	-1	-3
D	62.00	3	1	1
Q = Σ (ci*Ti)		-37.00	1.00	1.00
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = (Σci²)*r		60	12	60
JK = Q²/Kr		22.82	0.08	0.02
JK Regresi		22.92		

Lampiran 18. (lanjutan)

• Data Pengamatan Hematokrit 36 jam

➤ Perhitungan Sidik Ragam

$$- \text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{23,58}{3} = 7,86$$

$$- \text{Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{0,67}{8} = 0,67$$

$$- \text{F Hitung} = \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Acak}} = \frac{7,86}{0,67} = 11,79$$

➤ Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$- \text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,67}{3}} = 0,667$$

$$- \text{BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} = 2,306 \times 0,667 = 1,537$$

$$- \text{BNT 1\%} = t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} = 3,355 \times 0,667 = 2,237$$

➤ Tabel Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	88.00	-3	1	-1
B	93.00	-1	-1	3
C	97.00	1	-1	-3
D	99.00	3	1	1
Q = Σ (ci*Ti)		37.00	-3.00	-1.00
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = (Σci^2)*r		60	12	60
JK = Q^2/Kr		22.82	0.75	0.02
JK Regresi		23.58		

• Data Pengamatan Hematokrit 48 jam

➤ Perhitungan Sidik Ragam

$$- \text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{29,67}{3} = 9,89$$

$$- \text{Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{4,00}{8} = 0,50$$

$$- \text{F Hitung} = \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Acak}} = \frac{9,89}{0,50} = 19,78$$

Lampiran 18. (lanjutan)➤ **Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)**

$$- \text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,50}{3}} = 0,577$$

$$- \text{BNT } 5\% = t \text{ tabel } 5\% (\text{db acak}) \times \text{SED} = 2,306 \times 0,577 = 1,331$$

$$- \text{BNT } 1\% = t \text{ tabel } 1\% (\text{db acak}) \times \text{SED} = 3,355 \times 0,577 = 1,937$$

➤ **Tabel Polinomial Ortogonal**

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	92.00	-3	1	-1
B	97.00	-1	-1	3
C	100.00	1	-1	-3
D	105.00	3	1	1
Q = $\Sigma (ci \cdot Ti)$		42.00	0.00	4.00
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = $(\Sigma ci^2) \cdot r$		60	12	60
JK = Q^2 / Kr		29.40	0.00	0.27
JK Regresi		29.67		

Lampiran 19. Hasil Perhitungan Kadar Hemoglobin

• Data Pengamatan Hemoglobin Keseluruhan

Perlakuan	12 jam	24 jam	36 jam	48 jam	Rerata
A1	4.80	4.70	5.30	5.90	5.18
A2	4.70	4.60	5.50	5.70	5.13
A3	4.90	4.80	5.50	5.80	5.25
B1	4.70	4.60	5.40	6.30	5.25
B2	4.60	4.50	5.80	6.10	5.25
B3	4.80	4.70	5.70	6.00	5.30
C1	4.60	4.50	5.60	6.40	5.28
C2	4.40	4.40	5.90	6.50	5.30
C3	4.60	4.50	6.20	6.30	5.40
D1	4.50	4.40	6.40	6.60	5.48
D2	4.30	4.20	6.30	6.70	5.38
D3	4.30	4.30	6.50	6.80	5.48
K+1	4.90	4.50	6.60	6.90	5.73
K+2	4.80	4.60	6.50	7.00	5.73
K+3	4.70	4.40	6.60	6.80	5.63
K-1	4.50	4.40	4.20	4.10	4.30
K-2	4.40	4.30	4.10	3.90	4.18
K-3	4.30	4.20	4.10	4.00	4.15

• Data Pengamatan Hemoglobin 12 jam

➤ Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{0,33}{3} = 0,11$$

$$\text{- Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{0,09}{8} = 0,01$$

$$\text{- F Hitung} = \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Acak}} = \frac{0,11}{0,01} = 9,33$$

➤ Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\text{- SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,01}{3}} = 0,088$$

$$\text{- BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} = 2,306 \times 0,088 = 0,203$$

$$\text{- BNT 1\%} = t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} = 3,355 \times 0,088 = 0,296$$

Lampiran 19. (lanjutan)

➤ Tabel Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	14.40	-3	1	-1
B	14.10	-1	-1	3
C	13.60	1	-1	-3
D	13.10	3	1	1
Q = Σ (ci*Ti)		-4.40	-0.20	0.20
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = (Σci²)*r		60	12	60
JK = Q²/Kr		0.32	0.00	0.00
JK Regresi		0.33		

• Data Pengamatan Hemoglobin 24 jam

➤ Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{0,27}{3} = 0,09$$

$$\text{- Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{0,07}{8} = 0,01$$

$$\text{- F Hitung} = \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Acak}} = \frac{0,09}{0,01} = 10,80$$

➤ Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\text{- SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,01}{3}} = 0,075$$

$$\text{- BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} = 2,306 \times 0,075 = 0,172$$

$$\text{- BNT 1\%} = t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} = 3,355 \times 0,075 = 0,250$$

➤ Tabel Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	14.10	-3	1	-1
B	13.80	-1	-1	3
C	13.40	1	-1	-3
D	12.90	3	1	1
Q = Σ (ci*Ti)		-4.00	-0.20	0.00
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = (Σci²)*r		60	12	60
JK = Q²/Kr		0.27	0.00	0.00
JK Regresi		0.27		

Lampiran 19. (lanjutan)

• Data Pengamatan Hemoglobin 36 jam

➤ Perhitungan Sidik Ragam

$$- \text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{1,58}{3} = 0,53$$

$$- \text{Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{0,31}{8} = 0,04$$

$$- \text{F Hitung} = \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Acak}} = \frac{0,53}{0,04} = 13,41$$

➤ Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$- \text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,04}{3}} = 0,162$$

$$- \text{BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} = 2,306 \times 0,162 = 0,373$$

$$- \text{BNT 1\%} = t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} = 3,355 \times 0,162 = 0,542$$

➤ Tabel Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	16.30	-3	1	-1
B	16.90	-1	-1	3
C	17.70	1	-1	-3
D	19.20	3	1	1
Q = Σ (ci*Ti)		9.50	0.90	0.50
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = (Σci^2)*r		60	12	60
JK = Q^2/Kr		1.50	0.07	0.00
JK Regresi		1.58		

• Data Pengamatan Hemoglobin 48 jam

➤ Perhitungan Sidik Ragam

$$- \text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{1,32}{3} = 0,44$$

$$- \text{Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{0,11}{8} = 0,01$$

$$- \text{F Hitung} = \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Acak}} = \frac{0,44}{0,01} = 33,06$$

Lampiran 19. (lanjutan)

➤ **Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)**

$$- \text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,01}{3}} = 0,094$$

$$- \text{BNT } 5\% = t \text{ tabel } 5\% (\text{db acak}) \times \text{SED} = 2,306 \times 0,094 = 0,217$$

$$- \text{BNT } 1\% = t \text{ tabel } 1\% (\text{db acak}) \times \text{SED} = 3,355 \times 0,094 = 0,316$$

➤ **Tabel Polinomial Ortogonal**

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	17.40	-3	1	-1
B	18.40	-1	-1	3
C	19.20	1	-1	-3
D	20.10	3	1	1
Q = $\sum (ci \cdot Ti)$		8.90	-0.10	0.30
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = $(\sum ci^2) \cdot r$		60	12	60
JK = Q^2 / Kr		1.32	0.00	0.00
JK Regresi		1.32		

Lampiran 20. Hasil Perhitungan Tingkat Kelulushidupan (*Survival Rate*)

• **Data *Survival Rate***

Perlakuan	SR
A1	60.00
A2	70.00
A3	60.00
B1	70.00
B2	80.00
B3	60.00
C1	80.00
C2	90.00
C3	80.00
D1	90.00
D2	90.00
D3	80.00

• **Perhitungan Sidik Ragam**

- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan = $\frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} = \frac{1091,67}{3} = 363,89$

- Kuadrat Tengah (KT) Acak = $\frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} = \frac{400,00}{8} = 50,00$

- F Hitung = $\frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} = \frac{363,89}{50,00} = 7,28$

• **Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)**

- $SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 50,00}{3}} = 5,774$

- BNT 5% = t tabel 5% (db acak) x SED = 2,306 x 5,774 = 13,314

- BNT 1% = t tabel 1% (db acak) x SED = 3,355 x 5,774 = 19,372

• **Tabel Polinomial Ortogonal**

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	190.00	-3	1	-1
B	210.00	-1	-1	3
C	250.00	1	-1	-3
D	260.00	3	1	1
Q = Σ (ci*Ti)		250.00	-10.00	-50.00
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = (Σci^2)*r		60	12	60
JK = Q^2/Kr		1041.67	8.333	41.667
JK Regresi		1091.67		

Lampiran 21. Hasil Uji Normalitas Data Kelulushidupan menggunakan SPSS

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test



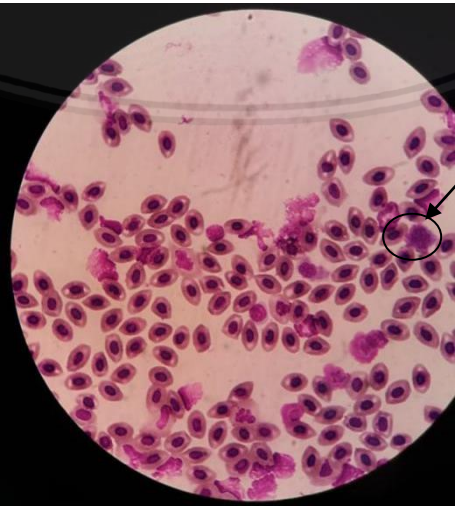
		Unstandardized Residual
N		12
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	6.39602149
Most Extreme Differences	Absolute	.147
	Positive	.147
	Negative	-.134
Kolmogorov-Smirnov Z		.510
Asymp. Sig. (2-tailed)		.957

a. Test distribution is Normal.

Lampiran 22. Hasil Pengukuran Kualitas Air selama Pemeliharaan

Tanggal	Perlakuan	Waktu	Suhu	DO	pH
8 - 19 Februari	A1	Pagi	25.9	6.2	7.44
		Siang	25.8	5.8	7.53
		Sore	25.6	7	7.25
	A2	Pagi	25.7	5.5	7.72
		Siang	26.8	5.9	7.45
		Sore	25.5	6.8	7.63
	A3	Pagi	25.6	7.2	7.98
		Siang	25.7	5.6	7.82
		Sore	25.8	6.4	7.55
	B1	Pagi	25.9	6.9	7.11
		Siang	25.7	7.4	7.89
		Sore	25.6	8.1	7.46
	B2	Pagi	25.8	6.5	8.1
		Siang	25.8	8.4	8.11
		Sore	25.5	7.5	8.7
	B3	Pagi	25.7	5.8	8.3
		Siang	25.8	6.7	7.64
		Sore	25.7	7	7.43
	C1	Pagi	26	6	7.21
		Siang	26.5	5.5	8.09
		Sore	25.8	6.7	8.01
	C2	Pagi	25.8	8.3	7.13
		Siang	26	8.8	8.09
		Sore	25.7	7.2	7.86
C3	Pagi	25.4	7.3	8.11	
	Siang	25.8	7.8	8.7	
	Sore	25.7	6.5	7.95	
D1	Pagi	25.2	5.9	7.34	
	Siang	25.7	6.7	7.59	
	Sore	25.5	7.2	7.24	
D2	Pagi	25.3	6	8.02	
	Siang	25.8	6.8	8.07	
	Sore	25.4	7.8	8.14	
D3	Pagi	25.8	5.5	7.65	
	Siang	26.1	6.8	7.26	
	Sore	25.7	7.5	7.84	

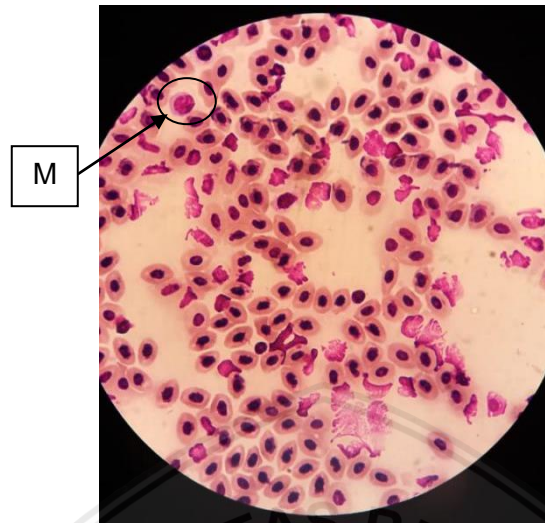
Lampiran 23. Hasil Pengamatan Hematologi Ikan Nila (*O. niloticus*)

Parameter	Gambar Hasil Uji Hematologi	Keterangan
Sel Darah Merah (Eritrosit)		Hasil eritrosit
Sel Darah Putih (Leukosit)		Hasil leukosit
Diferensial Leukosit (Limfosit)		Hasil limfosit

Lampiran 23. (lanjutan)

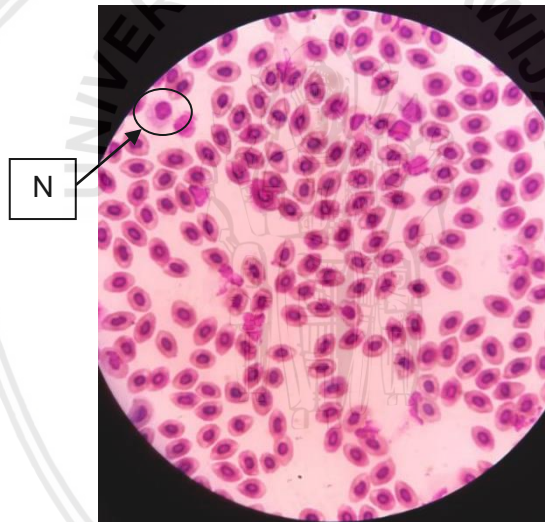
Diferensial
Leukosit
(Monosit)

Hasil monosit



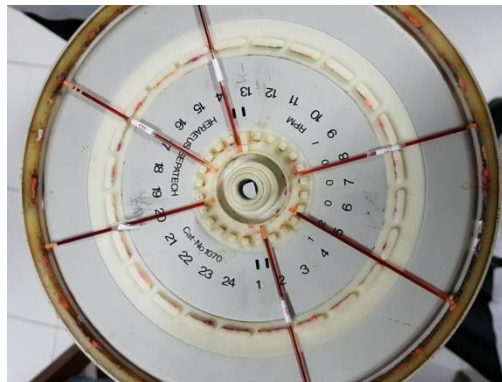
Diferensial
Leukosit
(Neutrofil)

Hasil neutrofil



Hematokrit

Pengukuran
kadar
hematokrit



Lampiran 23. (lanjutan)

Hemoglobin



Pengukuran kadar hemoglobin

